

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

**CONDIÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DA ÁGUA, ALIMENTOS E AMBIENTE
DE PREPARO DA ALIMENTAÇÃO EM ESCOLAS PÚBLICAS ATENDIDAS
PELO PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO
MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE – RS**

TESE DE DOUTORADO

ANA BEATRIZ ALMEIDA DE OLIVEIRA
Orientadora: Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Co-Orientador: Eduardo Cesar Tondo

Porto Alegre, setembro de 2011.

Dedico este trabalho aos meus filhos Pedro e Tiago.

Mesmo sem saber, em vários momentos
difíceis foram eles que me deram força.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Marisa Cardoso, pela disposição e pela contribuição para uma reflexão madura.

Ao meu co-orientador Eduardo Cesar Tondo, por instigar a busca incessante de conhecimentos.

Ao Laboratório de Parasitologia, em especial à Silvia Regina Pavan da Silva e à Prof^a. Marilise Brittes Rott pela credibilidade, entusiasmo e amizade.

Aos Laboratórios de Microbiologia do ICTA e de Medicina Veterinária Preventiva, pelo apoio e ajuda na realização de parte deste trabalho.

Aos bolsistas deste projeto, em especial ao Roberto Gonçalves pelo empenho.

À Prof^a. Elke Stedefeldt pela colaboração e carinho.

Às minhas colegas de doutorado Ana Carolina Ritter e Cheila de Paula que se tornaram minhas amigas pela convivência e força na pesquisa.

Às minhas colegas do Curso de Nutrição, em especial à Prof^a. Janaína Venzke, pelo apoio nas disciplinas.

Ao FNDE e à Coordenação do PNAE, pelo apoio financeiro, em especial à Albaneide Peixinho, por abrir caminhos, acreditar e investir nos CECANEs.

À equipe do CECANE UFRGS, em especial à Roberta Capalonga, pela paciência, apoio e força.

Aos meus pais, pela estrutura de educação que me proporcionaram.

Aos meus familiares, que me deram suporte para esta caminhada, especialmente à minha mãe, Magali, pelo incentivo e confiança.

Ao meu companheiro e marido, Luiz Fernando, pela paciência e tolerância nas horas de ansiedade, por discordar, por somar e amar.

À minha sogra Luiza *in memoriam* pelo incentivo e admiração aos estudos.

E a todos que direta ou indiretamente me apoiaram, em especial ao Marcello.

CONDIÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DA ÁGUA E AMBIENTE DE PREPARO DA ALIMENTAÇÃO EM ESCOLAS PÚBLICAS ATENDIDAS PELO PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE – RS

Autor(a): Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Orientador(a): Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

Co-Orientador: Eduardo Cesar Tondo

¹RESUMO

Neste trabalho foram estudadas 120 escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar na cidade de Porto Alegre – RS, para tanto utilizou-se uma lista de Verificação das Boas Práticas. Além disso, foi realizada análise de amostra de água utilizada no preparo da alimentação escolar, quanto à presença de mesófilos aeróbios totais, coliformes totais, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* spp. Também foram feitas coletas das superfícies de cinco equipamentos e utensílios para a quantificação de microrganismos mesófilos heterotróficos e avaliação quantitativa através da ATP bioluminescência. Junto a isto, alimentos foram coletados e analisados quanto à presença de *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. Os resultados da lista de Verificação das Boas Práticas indicaram que a maioria das escolas (64%) foi classificada em situação de risco sanitário regular. A análise bacteriológica das amostras de água indicou presença de *Escherichia coli* em 8,3% das escolas. Foram encontrados (oo)cistos de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* sp. na água colhida em três escolas. Em relação às contagens de mesófilos heterotróficos, a maioria das superfícies dos equipamentos apresentou índices satisfatórios. Na maioria das escolas, os valores de ATP bioluminescência encontrados indicavam higienização inadequada. Cinco dos alimentos analisados apresentaram *Escherichia coli* acima do permitido pela legislação. Dois alimentos indicaram presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Esses resultados demonstram que os manipuladores necessitam de capacitação e maior acompanhamento das atividades relacionadas ao preparo dos alimentos e higienização de superfícies de equipamentos e utensílios. A implementação das Boas Práticas de Manipulação e Processamento, sob supervisão de nutricionistas e investimento na manutenção das instalações das escolas, é necessária para garantir a segurança dos alimentos servidos aos escolares.

¹ Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Microbiologia de Alimentos Processados e "in Natura", Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (167 p.) Setembro, 2011.

CONDIÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DA ÁGUA E AMBIENTE DE PREPARO DA ALIMENTAÇÃO EM ESCOLAS PÚBLICAS ATENDIDAS PELO PROGRAMA NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO ESCOLAR NO MUNICÍPIO DE PORTO ALEGRE – RS

Autor(a): Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Orientador(a): Marisa Ribeiro De Itapema Cardoso

Co-Orientador: Eduardo Cesar Tondo

²ABSTRACT

This study included 120 schools supported by the National School Feeding Program (PNAE) in the city of Porto Alegre, Brazil, and a Best Practices Checklist for analysis was used. In addition, samples of water used to prepare school meals were analyzed to detect total aerobic mesophiles, total coliforms, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* spp. Samples were collected from the surface of five equipments and utensils to quantify heterotrophic mesophilic microorganisms and quantitative evaluations using ATP bioluminescence. Also, samples of food were collected and analyzed to detect the presence of *E. coli*, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. The best practices checklist indicated that most of the schools (64%) were in a situation of regular sanitary risk. Bacteriological analysis of the water samples showed that *Escherichia coli* were found in 8.3% of the schools. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* sp oocysts were found in water samples collected in three schools. Heterotrophic mesophile counts showed that surfaces of most utensils had acceptable contamination rates. In most schools, ATP bioluminescence values indicated inadequate cleaning. Five food samples had *Escherichia coli* levels above those allowed by legislation. Coagulase-positive *Staphylococcus* were found in two samples of food. These results show that people who manipulate food need better training and must be followed up closely during food preparation and cleaning of equipments and utensils' surfaces. Better Practices for Handling and Processing Foods, under the supervision of nutritionists as well as more investments in the maintenance of school facilities, should be implemented in order to make sure that food offered to students is safe.

² Doctoral thesis in Agricultural and Environmental Microbiology, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (159 p.) September, 2011.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) e o PNAE	4
2.2 Doenças transmitidas por alimentos (DTA)	5
2.3 Surtos de DTA em escolas	11
2.4 Características dos principais microrganismos causadores de DTA em crianças em idade escolar	14
2.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.4.2 Gênero <i>Shigella</i>	16
2.4.3 Gênero <i>Salmonella</i>	17
2.4.4 Gênero <i>Cryptosporidium</i> e Gênero <i>Giardia</i>	19
2.5 Microrganismos indicadores higiênico-sanitários de alimentos e água ...	25
2.6 Boas Práticas no preparo de alimentos: definição e legislação	28
2.7 Legislação Brasileira para a qualidade da água	30
2.8 Equipamentos e superfícies	31
2.8.1 ATP Bioluminescência	34
3 OBJETIVOS	37
3.1 Objetivo Geral.....	37
3.2 Objetivos Específicos	37
4 Material e Métodos.....	39
4.1 Local.....	39
4.2 Delineamento do estudo.....	39
4.3 Pessoal envolvido no estudo	40
4.4 Seleção e treinamento de pessoal	40
4.5 Projeto Piloto	40
4.6 Fluxograma de coleta e transporte das amostras.....	41
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Artigo 1	42
5.1.1 Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão	42
5.2 Artigo 2	64
5.2.1 Bacteriological and parasitological quality of the water used in public schools in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.....	64
5.3 Artigo 3	78
5.3.1 Avaliação das Boas Práticas de preparo de alimentos e da condição higiênico-sanitária de superfícies de equipamentos e utensílios em escolas públicas do município de Porto Alegre, Brasil.....	78
5.4 Artigo 4	103
5.4.1 Pesquisa de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre	103
6 CONCLUSÕES	123
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	125
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
9 ANEXO	137
9.1 ANEXO 1 - Lista de verificação em boas práticas para unidades de alimentação e nutrição escolares.....	137

10. APÊNDICES.....	150
10.1 APÊNDICE 1 – Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão	150
10.2 APÊNDICE 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os manipuladores de alimentos.....	158

RELAÇÃO DE TABELAS

TABELA 1: Principais microrganismos patogênicos envolvidos em Doenças Transmitidas por Alimentos 06

TABELA 2: Critérios e valores de referência para contagem de bactérias heterotróficas em superfícies em UFC/cm² em superfícies em contato com alimentos 33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APHA: *American Public Health Association*
ATP: Trifosfato de Adenosina
BHI: caldo de infusão cérebro-coração
BP: Boas Práticas
CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*
CECANE: Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar
CNSAN: Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional
CVE: Centro de Vigilância Epidemiológica
CVS: Controle de Vigilância Sanitária
DTA: Doenças Transmitidas por Alimentos
ETEC: *Escherichia coli* enterotoxigênica
EUA: Estados Unidos da América
FNDE: Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação
GL: Gay-Lussac
GN: caldo Gram-negativo
ICBS: Instituto de Ciências Básicas da Saúde
ICTA: Instituto de Ciências e Tecnologia dos Alimentos
ILSI: *International Life Sciences Institute*
L: litro
LIA: Ágar Lisina Ferro
MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MC: Ágar Mac Conkey
MEC: Ministério da Educação e Cultura
MS: Ministério da Saúde
mL: mililitro
nm: nanômetro
OMS: Organização Mundial de Saúde
OPAS: Organização Pan-Americana de Saúde
PNAE: Programa Nacional de Alimentação Escolar
PNAN: Programa Nacional de Alimentação e Nutrição
RS: Rio Grande do Sul
SAN: Segurança Alimentar e Nutricional
SIM: Meio Sulfato, Indol, Motilidade
SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*
SS: Ágar Shigella-Salmonella
TSA: Ágar Triptose de Soja
TSI: Ágar Trílice Açúcar
EU: União Europeia
UFC: Unidades Formadoras de Colônia
UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UNIFESP: Universidade Federal de São Paulo
URL: Unidade Relativa de Luz
UV: Ultravioleta
VMVP: Vermelho de Metila e Voges-Proskauer
XLD: Ágar Xilose Lisina Desoxicolato

1 INTRODUÇÃO

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), gerenciado pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), do Ministério da Educação (MEC), foi implantado em 1955, no Brasil. Este programa visa à transferência, em caráter suplementar, de recursos financeiros destinados a suprir, parcialmente, as necessidades nutricionais dos estudantes da educação infantil (creches e pré-escola), do ensino fundamental e do ensino médio, matriculados em escolas públicas e filantrópicas do Brasil. O PNAE é considerado um dos maiores programas na área de alimentação escolar do mundo, contribuindo para o crescimento, o desenvolvimento, a aprendizagem e o rendimento escolar dos estudantes, bem como a formação de hábitos alimentares saudáveis.

A partir de 2003, o PNAE recebeu vários incrementos nos recursos financeiros com conseqüente aumento do valor *per capita* e integração dos alunos de comunidades indígenas e quilombolas ao programa. Em 2009, o programa foi estendido para os alunos do ensino médio. Também foi instituído que, no mínimo, 30% do recurso repassado pelo FNDE devem ser investidos na compra direta de produtos da agricultura familiar, medida que estimula o desenvolvimento econômico das comunidades (Brasil, 2010).

Desde novembro de 2006, o FNDE firmou parcerias com Instituições Federais de Ensino Superior para criação de Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE). O objetivo dessa parceria é a realização de pesquisas e o desenvolvimento de projetos relacionados à alimentação e à nutrição dos escolares das redes públicas de ensino, contexto no qual o presente estudo se insere. As Universidades Federais também colaboram no desenvolvimento de ações de apoio, como a melhoria da qualidade da alimentação escolar, da gestão e do controle social do PNAE, a criação de metodologia didático-pedagógica e capacitação dos técnicos envolvidos no preparo da alimentação escolar.

Cada Universidade Federal pode desenvolver ações específicas de acordo com a sua região. A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), desde 2008, vem estudando os aspectos higiênico-sanitários do preparo da alimentação escolar, assim como a adequação de cardápios oferecidos e a avaliação nutricional de estudantes em escolas públicas do Rio Grande do Sul.

Os alimentos oferecidos aos escolares devem satisfazer parte de suas exigências biológicas. É essencial, também, que possam ser aproveitados pelo organismo e, com isso, tenham condição de exercer sua função nutricional. Para que isso ocorra, é necessário controlar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, fator essencial à sua inocuidade, uma vez que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são uma das principais causas que contribuem para os índices de morbidade no país.

A contaminação dos alimentos pode ser iniciada na produção da matéria-prima e se estender às etapas de transporte, recepção e armazenamento desses ingredientes. Durante o preparo dos alimentos, pode ocorrer contaminação devido a condições inadequadas de higiene dos manipuladores, equipamentos, utensílios e do ambiente. Além disso, pode haver multiplicação microbiana em decorrência de condições impróprias de armazenamento dos produtos prontos para consumo.

Considerando esses aspectos, bem como o fato que as crianças são um dos grupos mais suscetíveis às DTA, a avaliação das condições higiênico-sanitárias dos serviços de alimentação das escolas assume grande importância. Além disso, são poucos os trabalhos científicos a respeito da qualidade microbiológica da alimentação escolar e do seu ambiente de preparação, o que ressalta a necessidade de ampliar o conhecimento acerca desse assunto. No Rio Grande do Sul, essa realidade não é diferente, uma vez que não há estudos científicos publicados sobre a situação higiênico-sanitária da produção da alimentação escolar nas escolas municipais e estaduais. Devido a isso, e contribuindo com os esforços do PNAE para a melhoria da alimentação escolar, o presente estudo elegeu uma amostra representativa das escolas públicas da cidade de Porto Alegre para investigar os parâmetros microbiológicos da água e dos alimentos, assim como as condições higiênico-sanitárias do ambiente de preparação da alimentação dos escolares.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) e o PNAE

O PNAE é uma política pública de alimentação da maior relevância, já que, em 2010, atendeu cerca de 47 milhões de estudantes, o que representa aproximadamente 25% da população brasileira. O programa deve seguir os princípios da SAN, pois, além de oferecer alimentação durante cinco dias da semana a esse grande número de escolares, dos quais muitos se encontram em situação de vulnerabilidade alimentar, tem uma importante função educativa. O conceito aqui utilizado compreende aquele aprovado na II Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (CNSAN): “SAN é a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde, que respeitem a diversidade cultural e que sejam social, econômica e ambientalmente sustentáveis” (Brasil, 2004a). Esta definição, que no passado enfocava principalmente as questões relativas ao abastecimento e acesso aos alimentos em quantidades adequadas (Freitas & Pena, 2007), vem sofrendo incorporações com o passar dos anos, abrangendo outros eixos que vieram constituir atualmente este conceito amplo com dimensões culturais, ambientais e econômicas.

Segundo Maluf (2007), uma peculiaridade do conceito de SAN desenvolvido no Brasil em relação a outros países é que ele engloba duas dimensões: segurança alimentar (relacionada à disponibilidade física dos alimentos – *food security* –) e segurança dos alimentos (relacionada à inocuidade do consumo alimentar – *food safety* –). Essa diferença na formulação do conceito no Brasil causa muitos erros conceituais, por isso é necessário destacar que segurança dos alimentos e segurança alimentar são termos que não devem ser utilizados como sinônimos. A segurança dos alimentos, portanto, é contemplada pela definição de SAN e trata da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, pois, para que uma alimentação seja segura, deve ser livre de contaminantes biológicos, causadores de doenças alimentares (Brasil, 2004b).

Para garantir a SAN, deve-se ter a oferta regular de água potável tanto para o consumo quanto para o preparo das refeições, pois ela é um alimento que tem influência direta sobre a saúde, a qualidade de vida e o desenvolvimento do ser humano. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 2,2 milhões de pessoas morrem devido à ingestão de água ou alimentos contaminados; dessa forma, o monitoramento da sua qualidade é muito importante (*International Life Sciences Institute – ILSI –*, 2005).

2.2 Doenças transmitidas por alimentos (DTA)

As DTA são as enfermidades que ocorrem quando uma pessoa apresenta sintomas clínicos consequentes à ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos, substâncias químicas ou

objetos lesivos (Loir et al., 2003; Greig & Ravel, 2009). Grande parte dos casos de toxinfecções alimentares resulta da associação entre o consumo de alimentos que sofreram manipulação inadequada e más condições de armazenamento e distribuição, que permitem a contaminação e posterior multiplicação e veiculação de agentes de natureza infecciosa aos consumidores (Rodrigues et al., 2004). Os patógenos alimentares conhecidos incluem parasitos, bactérias, vírus e fungos (Tabela 1).

Surto de DTA é a ocorrência de dois ou mais casos de quadros clínicos gastroentéricos similares, consequentes à ingestão de alimentos em uma comunidade ou coletividade, configurando uma origem de fonte comum (*Centers for Disease Control and Prevention – CDC –*, 2006; Greig & Ravel, 2009).

TABELA 1 - Principais microrganismos patogênicos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos.

Bactérias	Parasitos	Vírus	Fungos
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Rotavirus	<i>Aspergillus</i>
<i>Brucella</i> spp.	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Astrovirus	<i>Fusarium</i> spp.
<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Giardia lamblia</i>	Vírus do tipo Norwalk	<i>Rhizopus</i> spp.
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	Vírus da Hepatite A	<i>Penicillium</i> spp.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Trichinella spiralis</i>		
<i>Listeria monocytogenes</i>			
<i>Salmonella enterica</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Streptococcus</i> spp.			
<i>Vibrio cholera</i>			
<i>Vibrio vulnificus</i>			
<i>Yersinia enterocolitica</i>			

Fontes: Forsythe, 2010; Jay, 2005; Silva Jr., 2008.

Diversos estudos apontam que os microrganismos mais envolvidos em DTA são as bactérias. Dados epidemiológicos disponibilizados por órgãos de controle sanitário dos Estados Unidos (EUA) bem como do Brasil confirmam essa afirmação. Dos 2.167 surtos com etiologia conhecida nos EUA, de 1998 a 2002, 55% foram causados por bactérias, 33% por vírus e 1% por parasitos (CDC, 2009). No Brasil, entre os anos 1999 e 2008, foram notificados 6.062 surtos de DTA com o total de 64 óbitos registrados, sendo as bactérias (84%) o agente etiológico que mais causou surtos, seguido de vírus, com 13,6% dos casos. Nos casos de surtos de DTA notificados em São Paulo, de 1999 a 2008, pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), a maior parte (62%) também foi causada por bactérias; em segundo lugar, figuram os vírus (25%), e 10% dos surtos se deveram a parasitos (São Paulo, 2008).

Ao serem verificadas quais bactérias são mais associadas a surtos alimentares, muitos estudos apontam *Salmonella enterica* (*S. enterica*) como um importante agente de DTA. Greig e Ravel (2009) estudaram os surtos de DTA nos EUA, Canadá, União Europeia (UE), Austrália, Nova Zelândia e outros países. Foram analisados relatórios publicados sobre surtos identificados entre 1988 e 2007 por fontes governamentais e artigos científicos. A partir do total de 4.093 surtos registrados, foi elaborada uma tabela contendo dados nas três dimensões (microrganismo, região e fonte alimentar). Pela análise dos dados, verificou-se que 70% dos surtos foram causados por *S. enterica*, Norovírus e *Escherichia coli* (*E. coli*).

Em levantamento realizado por Hughes et al. (2007), na Inglaterra e no País de Gales, sobre surtos ocorridos de 1992 a 2003, foi verificado que *S.*

enterica foi responsável por mais da metade dos casos reportados (52%) e que *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) foi a segunda causa da ocorrência de surtos (29%). Na Áustria, do total de 606 surtos alimentares documentados em 2005, 76% foram causados por *S. enterica* e 23% por *Campylobacter* spp. (Much et al., 2007). No Rio Grande do Sul, os principais microrganismos identificados a partir da análise de 186 surtos por Welker et al. (2010), foram *S. enterica* (37%) e estafilococos coagulase positiva (28%).

Nos surtos notificados nos EUA, de 1998 a 2002, *Salmonella* Enteritidis foi o sorotipo que causou o maior número de surtos. No entanto, foi *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) a causa da maioria dos óbitos, mais do que qualquer outro microrganismo patogênico transmitido por alimentos (CDC, 2009).

Em relação aos alimentos veiculadores nos surtos, o trabalho de Greig e Ravel (2009) concluiu que os alimentos com ingredientes de risco, como por exemplo, os que continham produtos como ovos e carne, estavam entre os mais envolvidos em DTA. Em concordância com esse resultado, no levantamento feito na Inglaterra e País de Gales, sobremesas, ovos e carne de frango representaram mais de 75% das fontes de surtos causados por *S. enterica* (Hughes et al., 2007).

O ovo tem sido o alimento mais apontado como fonte de *S. enterica* em diversos estudos (CDC, 2009; Greig & Ravel, 2009; Hughes et al., 2007; Much et al., 2007), bem como no levantamento de surtos ocorridos em escolas nos EUA, de 1973 a 1997 (Daniels et al., 2002). No estudo conduzido por Much et al. (2007) foi observado que, além do ovo, envolvido em 57% dos surtos, a

carne – especialmente de aves – foi o veículo em 30% dos casos e o leite ou produtos lácteos – especialmente leite cru –, em 4%.

Confirmando os resultados relatados anteriormente, estudo realizado por Costalunga & Tondo (2002), no Rio Grande do Sul (RS), aponta a maionese caseira (preparada com ovo cru) como o alimento mais implicado em surtos de salmonelose, e a carne como o segundo mais envolvido nesses casos. A carne – vermelha e de frango – também foi citada como veículo de *C. perfringens* por Hughes et al. (2007) nos casos de surtos ocorridos de 1992 a 2003 na Inglaterra e País de Gales.

Conforme o estudo de Hughes et al. (2007), o local onde houve maior ocorrência de surtos, foi o comércio de alimentos – cantinas, hotéis, restaurantes e bares – e o de produção de alimentos para coletividades como albergues, colônias de férias, asilos e bases militares. Nos surtos ocorridos na Áustria, em 2005, também o comércio fornecedor de alimentos (incluindo restaurantes e cafeterias) foi o local da maioria das ocorrências, seguido das celebrações familiares e depois, as creches (Much et al., 2007). Conforme o Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, entre 1999 a 2008, 34% dos surtos por *S. enterica* ocorreram em restaurantes ou outros serviços de alimentação e 22% em residências.

Já, Costalunga & Tondo (2002), no Rio Grande do Sul (RS), constataram que os locais com maior índice de ocorrência foram residências (43,7%), seguidos de estabelecimentos comerciais (25,2%). As escolas ocuparam o quarto lugar com 5% das ocorrências nesse estudo. Resultados semelhantes foram obtidos em outro estudo conduzido no RS (Welker et al.,

2010), no qual as residências também foram os locais de maior ocorrência de surtos (43%), seguidos de estabelecimentos comerciais (18%) e de refeitórios de empresas (14%).

Conforme publicação do CDC (2006), os fatores que contribuem para que aconteçam surtos de DTA, podem ser agrupados da seguinte forma: os que influenciam na contaminação dos alimentos; os que permitem a proliferação do patógeno no alimento e os que cooperam para a sobrevivência do patógeno no alimento.

O fator de contaminação de alimentos mais comumente relatado é o contato do alimento com a mão do manipulador (CDC, 2006). No estudo de revisão sobre surtos em escolas dos EUA, de 1973 a 1997, mais da metade (57%) foram atribuídos à contaminação por manipulação durante o preparo dos alimentos (Daniels et al., 2002). Os patógenos alimentares ou toxinas pré-formadas precisam ser ingeridos a fim de desencadear uma doença alimentar. À exceção das toxinas botulínicas, das micotoxinas e toxinas do fitoplâncton, todos os agentes causadores de doenças alimentares podem ser contraídos pela via fecal-oral (Jay, 2005), o que mostra a importância da regulamentação da formação de manipuladores nas boas práticas de produção, conforme determina a Portaria 78/2009 da Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul (SES/RS) (RS, 2009).

A contaminação da matéria-prima por patógenos de origem animal ou do meio ambiente, e a posterior ingestão desse alimento, cru ou parcialmente cozido, é outro fator de contaminação apontado (CDC, 2006; Hughes et al., 2007; Michino & Otsuki, 2000; Tauxe, 2002).

Dentre os fatores que permitem a proliferação dos microrganismos, o elevado número de horas que os alimentos ficam expostos à temperatura ambiente é o mais importante nos surtos. Já em relação aos fatores de sobrevivência dos patógenos, os mais citados são o tempo e a temperatura de cozimento insuficiente durante o preparo dos alimentos (CDC, 2006; Tauxe, 2002).

2.3 Surtos de DTA em escolas

As cozinhas de escolas, por serem caracterizadas como um serviço de alimentação coletiva, devem seguir as mesmas exigências que os demais estabelecimentos desse tipo, a fim de evitar o risco de ocorrência de DTA nos escolares (Rio Grande do Sul, 2009; Brasil, 2004b). Diversos estudos realizados em diferentes partes do mundo relatam casos de surtos ocorridos em escolas. No levantamento de surtos de DTA que ocorreram em escolas, de 1973 a 1997, nos EUA, foi verificado que 5% de todos os surtos ocorriam nesse tipo de local, sendo *S. enterica* o patógeno mais comumente identificado. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) causou 25% e *C. perfringens* 11% dos surtos nas escolas. Os resultados demonstraram que 49.963 escolares foram acometidos por DTA, houve 1.514 internações e um óbito em função dessas doenças. Do total dos 604 surtos registrados, apenas em 240 (40%) foi identificada a etiologia. O agente patogênico que causou a maioria dos surtos, assim como visto nos demais estudos descritos anteriormente, foram as bactérias (85%) seguido de agentes químicos (7%). Os agentes virais foram responsáveis por 6% e os parasitários por 1% dos surtos. A fonte alimentar

mais comumente implicada foram os alimentos que continham frango (18,6%). As saladas e os alimentos da culinária mexicana participaram em 6% dos surtos, a carne bovina em 5,7% e produtos lácteos, excluindo sorvete, em 5% (Daniels et al., 2002).

Numa revisão realizada por Michino & Otsuki (2000) sobre 296 surtos de DTA associados à alimentação escolar no Japão, de 1987 a 1996, os microrganismos mais envolvidos foram *Campylobacter jejuni* (17%), *S. enterica* (16%), *E. coli* (13%) e *Staphylococcus* spp. (12%). Em 27% dos casos, o agente etiológico não foi identificado. Os alimentos crus e parcialmente cozidos, como saladas e produtos com ovo estavam envolvidos em 62 surtos. Os fatores que mais contribuíram para os surtos foram alimentos contaminados (46,8%); armazenamento de alimentos por um longo período, antes de serem servidos (46,8%); cozimento inadequado e contaminação cruzada (33,9%) e funcionários infectados (14,5%). Em diversos surtos, foram implicados vários fatores.

Em 1993, ocorreu surto alimentar em duas escolas de uma cidade do noroeste do estado de São Paulo, com 211 acometidos. O alimento consumido foi um tipo de patê (mistura de molho de maionese preparada com ovos crus e batata cozida) passado sobre o pão. A análise de três coproculturas e de restos de alimentos revelou a presença de *Salmonella* Enteritidis. No caso dos alimentos, o número encontrado desta bactéria por grama de produto era compatível com a quantidade de células necessária para desencadear a doença (10^4 a 10^5 /g). O antibiograma de todas as cepas isoladas revelou o mesmo padrão de sensibilidade. As falhas constatadas no preparo do alimento indicaram a possibilidade de contaminação cruzada e

inadequações nas condições de manutenção do alimento até o consumo. O surto afetou três períodos escolares, sendo que para cada um o alimento foi preparado em separado. Os exames de coprocultura realizados durante uma semana nas três merendeiras envolvidas, não indicaram que elas fossem portadoras assintomáticas da bactéria causadora ou que tivessem sido envolvidas no surto em questão (Kaku et al., 1995).

Em duas escolas primárias em Yu-Li, Taiwan, 182 crianças foram acometidas em surto de infecção por *Shigella sonnei* (*S. sonnei*), 2001. Os dados clínicos e epidemiológicos sobre a infecção das crianças foram coletados, e 47 crianças das duas escolas primárias foram positivas na pesquisa de *S. sonnei*, sendo que 23 dessas crianças eram assintomáticas (Huang et al., 2005).

Pakalniskiene et al. (2009) relataram um surto de gastroenterite aguda, causada por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), bem como *Salmonella* Anatum, que afetou cerca de 200 alunos e professores em novembro de 2006, depois de um jantar servido em escola de ensino médio em Copenhague, Dinamarca. Um estudo retrospectivo mostrou que o consumo de salada de massa com pesto causou o surto. O manjericão fresco importado, usado para a preparação do pesto, foi a fonte mais provável da infecção.

O relatório da "FoodNet" sobre a incidência de DTA nos Estados Unidos em 2007 faz a distribuição dos casos segundo diferentes variáveis como faixa etária, sazonalidade, sexo, hospitalização, entre outras. Em relação à faixa etária, foi observado que a incidência em crianças menores de um ano de idade foi significativamente maior para *S. enterica*, *Campylobacter* spp.,

Yersinia spp. e *L. monocytogenes* em comparação com outras faixas etárias. Já a ocorrência de *Shigella* spp. e *Cryptosporidium* spp. foi mais elevada no grupo das crianças na faixa etária de 1 – 9 anos (CDC, 2009).

2.4 Características dos principais microrganismos causadores de DTA em crianças em idade escolar

2.4.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus é um microrganismo frequentemente responsável por surtos de toxiose alimentar, estando intimamente associado aos manipuladores de alimentos – sendo usualmente encontrado na pele, mucosas do trato respiratório superior e intestino – (Michelin et al., 2006; Michino & Otsuki, 2000). É um coco Gram-positivo, o qual apresenta arranjo em pares, pequenas cadeias ou em cachos de uva. É uma bactéria anaeróbia facultativa, não formadora de endósporo. As cepas que crescem em presença de oxigênio produzem catalase. *S. aureus* cresce em concentrações de cloreto de sódio de até 10% e, acima deste valor, o crescimento é relativamente baixo. A maioria das cepas multiplica-se em temperatura entre 10 a 45°C e em pH entre 4,2 e 9,3. Produz ácido a partir do metabolismo de diversos carboidratos. Não hidrolisam esculina e são redutoras de nitrato. *S. aureus* produz uma grande variedade de enzimas e toxinas: estafiloquinas, fosfatases, coagulases e hemolisinas. Algumas cepas são produtoras de uma ou várias enterotoxinas que são responsáveis pela intoxicação estafilocócica. São descritas em torno

de 18 enterotoxinas estafilocócicas antígenicamente distintas (Jorgensen et al., 2005; Normanno et al., 2005).

S. aureus produz enterotoxinas em condições de temperatura entre 10 e 46°C, mas a temperatura ótima para sua produção é entre 40 e 45°C. Essas toxinas são resistentes a enzimas proteolíticas e termoestáveis. Ou seja, resistem a processos de aquecimento mesmo que a célula bacteriana vegetativa tenha sido inativada. A toxina forma-se durante a multiplicação desse microrganismo no alimento antes do seu consumo. A intoxicação pode ocorrer após a ingestão de alimento contendo entre 20 nanogramas a um micrograma de enterotoxina. Os sintomas da intoxicação estafilocócica aparecem até seis horas após a ingestão dos alimentos, predominando náusea, vômito e, em alguns casos, diarreia. Como a toxina estafilocócica não pode ser inativada pela cocção dos alimentos, o controle ocorre evitando-se a contaminação do alimento pelo microrganismo e mantendo-o a baixas temperaturas para impedir a proliferação bacteriana (Loir et al., 2003; Normanno et al., 2007).

Diaz et al. (2003), ao analisarem 898 amostras de alimentos coletados em cantinas de 101 escolas localizadas em Tenerife, Espanha, observaram que 24% apresentaram contaminação por *E. coli* e que três alimentos tinham a presença de *S. aureus*. Em setembro de 2006, ocorreu um surto de gastroenterite em uma escola no leste da Áustria, onde 113 pessoas foram acometidas; dessas, 101 foram hospitalizadas. Segundo as análises microbiológicas, o agente causador do surto foi *S. aureus* (Schmid et al., 2007). Mesquita et al. (2006), ao analisarem o processo produtivo do frango assado,

verificaram que das 96 amostras coletadas, 9,9% apresentavam coliformes fecais e 6,6 % *Staphylococcus* coagulase positiva.

2.4.2 Gênero *Shigella*

O gênero *Shigella* é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde como um dos principais problemas de saúde pública. Está entre as importantes causas de diarreia em pacientes pediátricos em países em desenvolvimento, porém pode ocorrer em crianças de países industrializados, principalmente em creches e pré-escolas. Com relação à infecção intestinal, o risco de contrair shigelose pode estar associado com o uso de fraldas e com a falta de higiene pessoal (Fullá, et al., 2005; Savadkoohi & Kacho, 2007; Penatti, et al., 2007).

O gênero *Shigella* pertence à família Enterobacteriaceae, assim como *Salmonella* e *Escherichia*. É bastante similar à *E.coli*, mas pode ser diferenciada por não produzir gás a partir de carboidratos e por ser lactose-negativa. São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, imóveis, aeróbios facultativos; fermentam a glicose com produção de ácido; não possuem cápsula, exceto certos sorovares de *Shigella flexneri* e *Shigella boydii*. Não hidrolisam ureia, não produzem gás sulfídrico, não descarboxilam a lisina e, além disso, não utilizam citrato nem acetato de sódio como única fonte de carbono (Jay, 2005; Penatti et al., 2007).

Segundo Alcoba-Flórez et al. (2005), *Shigella* spp. são frequentemente disseminadas pelo contato direto pessoa-pessoa, pela via fecal-oral ou, indiretamente, pelo consumo de alimentos ou água

contaminados. A água é o veículo de muitos microrganismos patogênicos, por isso a sua qualidade é de extrema importância (Cruz et al., 2006). Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2001), “80% de todas as doenças e pelo menos um terço das mortes nos países em desenvolvimento estão associados à água. Pelo menos um décimo da vida produtiva das pessoas é prejudicada devido a doenças relacionadas com a água”.

Estima-se que a shigelose seja responsável por cerca de 600.000 mortes no mundo; cerca de dois terços dos casos e a maioria de mortes ocorre em crianças menores de 10 anos de idade. A doença acontece em locais com precárias condições de higiene e problemas de saneamento básico, e é endêmica em países em desenvolvimento e de clima tropical, especialmente, as espécies *S. sonnei* e *S. dysenteriae*. No estado de São Paulo, 2 a 5% dos surtos de DTA notificados no CVE são causados por *Shigella* spp., envolvendo, em média, 300 pessoas por ano (São Paulo, 2003).

2.4.3 Gênero *Salmonella*

Este microrganismo tem sido o principal envolvido em surtos de doenças veiculadas por alimentos no Rio Grande do Sul e está entre os de maior ocorrência no mundo (Costalunga & Tondo, 2002; Oliveira et al., 2009; CDC, 2009). Esta bactéria pode estar presente em ovos, amplamente utilizados na alimentação escolar, e possui estreita relação com a contaminação cruzada na manipulação dos alimentos (CDC, 2009; Daniels et al., 2002; Hughes et al., 2007; Michino & Otsuki, 2000). Vários estudos apontam esse agente como causador de surtos em diferentes estabelecimentos que preparam refeições,

principalmente em larga escala. Um exemplo disso é a avaliação conduzida em alimentos servidos em voos comerciais internacionais, nos quais houve a ocorrência de surtos de DTA. *S. enterica* foi a causa mais comum desses surtos, representando 39,5% das ocorrências (McMullan et al., 2007).

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae. São bacilos Gram-negativos, na sua maioria móveis (com flagelos peritríquios), não esporulados, sendo que a maioria não fermenta a lactose. Essa bactéria fermenta a glicose, produzindo ácido e gás, e sua temperatura ótima de crescimento é de aproximadamente 37°C. Como não formam esporos, são relativamente termo-sensíveis, podendo ser destruídas a 60°C, por 15 a 20 minutos. Essa bactéria é classificada em três espécies: *S. subterraneae*, *S. bongori* e *Salmonella enterica* que é subdividida em seis subespécies (*arizonae*, *diarizonae*, *enterica*, *houtenae*, *indica*, *salamae*). Com base nos seus antígenos capsulares (Vi), somáticos (O) e flagelares (H), são classificadas em sorovares de acordo com o esquema de Kauffmann-White. Existem mais de 2500 sorovares identificados, a maioria deles pertencentes à *S. enterica* subsp. *enterica* (Andrade, 2008; Forsythe, 2010; Jay, 2005, Guibourdenche et al, 2010, Shelobolina et al., 2004).

A quase totalidade dos casos de salmonelose relatada em humanos é associada a sorovares de *S. enterica* subsp. *enterica*. O período de incubação da gastroenterite causada por essa bactéria é de até 72 horas após a ingestão do alimento contaminado; os primeiros sintomas da doença incluem dores abdominais, diarreia e febre. Alguns casos podem apresentar maior ou menor intensidade, variando de acordo com a imunidade do acometido. Idosos

e crianças podem apresentar quadros mais graves ou de maior desidratação, ressaltando a importância de estudos que abordam as DTA em escolas (Daniels et al., 2002; Michino & Otsuki, 2000; Tauxe, 2002).

Em novembro de 2005, um surto de *S. Enteritidis* foi observado em crianças que tinham feito suas refeições nas cantinas terceirizadas pela mesma empresa, de 53 escolas em Florença/Itália. Foi isolado um total de 154 cepas de *S. Enteritidis* das pessoas envolvidas. Entre essas, dois manipuladores de alimentos foram positivos para *S. Enteritidis*. Neste período, os isolados foram submetidos à caracterização molecular. No entanto, as análises não foram conclusivas para identificar a fonte alimentar da infecção, assim como o rastreamento da rota de transmissão (Romani et al., 2007).

Um surto causado por *S. Senftenberg* no Reino Unido foi atribuído ao consumo de manjeriço contaminado. Saladas de folhas contaminadas têm sido apontadas como importantes veículos para a transmissão de patógenos entéricos para humanos (Berger et al., 2009).

2.4.4 Gênero *Cryptosporidium* e Gênero *Giardia*

Os protozoários *Cryptosporidium* spp. e *Giardia lamblia* (*G. lamblia*) estão entre os principais causadores de diarreias em humanos e têm sido reconhecidos mundialmente como os responsáveis por doenças transmitidas pela água (Karaniş et al., 2007).

Cryptosporidium é um protozoário de distribuição cosmopolita e descrito em diversos países (Fayer, 2000; Huang & White, 2006; Karaniş et al, 2007). É endêmico, na maioria das regiões tropicais, e a suscetibilidade à

criptosporidiose depende de vários fatores como a idade e estado imunitário do hospedeiro (Xiao & Ryan, 2004). Segundo CDC (2009), a maioria dos casos ocorre em crianças menores de 9 anos de idade.

Pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidia, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina, família Cryptosporidiidae, com um único gênero *Cryptosporidium*, realiza um parasitismo intracelular obrigatório no epitélio do trato gastrintestinal e parasita a superfície das microvilosidades dos enterócitos intestinais (Fayer, 2000; Huang & White, 2006 Sodré & Franco, 2001).

Atualmente são reconhecidas 17 espécies de *Cryptosporidium*, entretanto são *C. parvum* e *C. hominis* as principais espécies que infectam indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos em todo o mundo (Morgan et al, 2000. Leal & Franco, 2008). Com exce o de *C. hominis*, cujo ciclo de transmissão   preferencialmente antropon tico, as demais espécies, incluindo *C. parvum*, apresentam um comportamento zoonótico (Xiao & Ryan, 2004; Cacci  et al, 2005).

Cryptosporidium difere morfologicamente de todos os outros gêneros da subordem Eimeriina. Nestes, os oocistos são frequentemente maiores (10 a 40 m) e variam quanto ao número de esporocistos que se diferenciarão em esporozoítos. Os oocistos de *Cryptosporidium* são esféricos ou ovoides, medem de 3 a 8 m de diâmetro e possuem internamente quatro esporozoítos (Fayer, 2000).

Mais de 50 estudos sobre surtos de criptosporidiose foram revisados por Fayer et al. (2000) demonstrando que, na maioria dos casos, foi detectada

uma combinação de causas, incluindo fonte de água contaminada, alta turbidez e falha na unidade de tratamento. O maior surto documentado relacionado à água potável ocorreu em Milwaukee, em 1993, nos EUA, com uma estimativa de 403.000 casos graves da doença e 100 mortes, principalmente entre pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida (Mackenzie et al., 1995; Rose et al., 2002; Dillingham et al., 2002).

Os sintomas da criptosporidose se desenvolvem após um período de incubação de uma semana. O principal sintoma clínico é a diarreia, entretanto, há diferença na intensidade dos sintomas clínicos, dependendo da população hospedeira atingida (Huang & White, 2006).

Giardia é um protozoário flagelado, binucleado, entérico. O nome da espécie *Giardia* é dependente do hospedeiro de origem. Os seres humanos, acredita-se, são infectados por uma única espécie, variando a denominação em *G. lamblia*, *G. intestinalis* ou *G. duodenalis* (Huang & White, 2006).

Esse parasito pertence ao filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Diplomonadida, família Hexamitidae, gênero *Giardia*, espécie *G. lamblia* (Levine, 1980) e é um dos mais antigos organismos eucariotos conhecidos. Apresenta uma ampla variedade de hospedeiros, podendo infectar mamíferos, aves e répteis (Ortega & Adam, 1997; Appelbee et al., 2005).

Apresenta-se em duas formas básicas: trofozoítos e cistos. O trofozoíto é o estágio ativo e móvel, sendo encontrado aderido à parede da mucosa do intestino do hospedeiro. O cisto é o estágio infectante, latente e resistente encontrado nas fezes, na água e no ambiente (Dawson, 2005).

A sintomatologia é variada e inclui diarreia aguda ou crônica, distensão abdominal, náuseas, flatulência, anorexia, e perda de peso (Adam, 2001; Thompson, 2004) até casos assintomáticos.

Pesquisas têm demonstrado que muitas das fontes de captação de água estão contaminadas com oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* sp., antes do tratamento (Rose et al., 2002). Esses patógenos são alvo de preocupação, tanto das autoridades de saúde pública quanto da comunidade científica, devido à transmissão comprovada de (oo)cistos por meio de água tratada e distribuída por sistemas de abastecimento (Bevilacqua et al., 2009). Isso demonstra que as tecnologias de tratamento de água tornaram-se insuficientes e que resultados negativos para coliformes não garantem que a água esteja livre de todos os agentes patogênicos, em especial os protozoários. A preocupação nas escolas é substancial porque baixos níveis de ocorrência desses patógenos podem ser responsáveis pela transmissão endêmica de DTA (Leclerc et al., 2002).

Os (oo)cistos são conhecidos pela sua sobrevivência, tanto no solo, quanto na água. Além disso, resistem à ação de agentes químicos desinfetantes, particularmente o cloro. Estas características facilitam a disseminação de tais protozoários no meio ambiente, na água tratada, nos alimentos e nas áreas recreacionais e costeiras (Rose et al., 2002; Smith et al., 2007, Leal e Franco, 2008).

Esses protozoários apresentam características comuns que influenciam a epidemiologia destas parasitoses: a dose infectante é pequena

(de 1 a 10 oocistos e cistos) e os (oo)cistos já são eliminados infectantes nas fezes de seus hospedeiros (Leal e Franco, 2008).

A transmissão de protozoários patogênicos via água de consumo é há muito tempo conhecida. Como exemplos, citam-se a associação entre *G. lamblia* e a água imprópria para consumo humano e, mais recentemente, *Cryptosporidium* spp., responsável por parasitose de caráter emergente, tanto pela sua ampla distribuição, quanto pela ocorrência de diversos surtos e infecções esporádicas registradas em várias partes do mundo. Como a transmissão destes parasitos ocorre de animais para humanos e vice-versa, aumentam assim, os reservatórios de cistos e oocistos (Karanis et al., 2007; Richter, 2009; Smith et al., 2007).

Ambos, *Cryptosporidium* spp. e *G. lamblia* possuem ciclos de vida que facilitam sua transmissão através da água e de alimentos. Estes ciclos acontecem através da rota de transmissão fecal-oral e necessitam de um hospedeiro individual, que excreta grande quantidade de oocistos e cistos quando infectado (Smith et al., 2007).

Infecções por *Cryptosporidium* spp. e *G. lamblia* são causas comuns de gastroenterites, principalmente manifestando diarreia e má absorção. A severidade da doença em pacientes imunocomprometidos e em crianças relaciona-se com a alteração da permeabilidade intestinal (Huang & White, 2006, Bajer, 2008).

Os avanços analítico-metodológicos na pesquisa de protozoários em amostras de água e seu emprego rotineiro ainda estão distantes, quer pelas limitações dos próprios métodos, quer pelos custos envolvidos. O método

recomendado e mais utilizado atualmente para a pesquisa de protozoários na água é o Método 1623 (USEPA, 2005). Esta metodologia tem como finalidade a detecção de oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia* na água. Ela identifica os gêneros, mas não a espécie, assim como não determina a espécie hospedeira de origem nem a viabilidade ou a infectividade de oocistos e cistos detectados (USEPA, 2005; Nowosad. et al, 2007).

Cabe salientar, que esse método não é suficientemente sensível. Pode ocorrer a não-detecção desses microrganismos, pois as estruturas - (oo)cistos - dos protozoários de interesse no monitoramento hídrico não se proliferam no ambiente, estando geralmente em menor quantidade quando comparados a outros microrganismos, como por exemplo, bactérias (Karanis et al., 2007; Huang & White, 2006, Fayer et al., 2000).

Vários estudos demonstram a dificuldade de métodos padronizados de análise em função de suas limitações. Uma restrição importante na metodologia é a recomendação de coleta de 50 litros de água (USEPA, 2005) para a detecção de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* sp. Essa grande quantidade de amostra torna muitas vezes inviável a realização de pesquisa, monitoramento e controle da presença desses parasitos patogênicos na água. Por isso, vários estudos têm utilizado uma quantidade amostral menor, de 10 litros de água (Borges et al., 2007; Farias et al., 2002; Gamba et al., 2000).

Alguns autores sugerem que tanto ou mais importante que sua pesquisa é a adoção de medidas como inspeção sanitária das fontes de abastecimento e respectivas bacias de captação (uso e ocupação do solo, potenciais fontes de contaminação, etc.) e programas de proteção de bacias e

fontes de abastecimento (Brasil, 2006a). A Rússia é um exemplo dessa conduta, pois há um monitoramento da água antes dela entrar no sistema de distribuição (Karanis, 2007).

As giardíases também possuem distribuição cosmopolita. A infecção acomete mais crianças do que adultos. A prevalência é maior em áreas com saneamento básico deficiente e em instituições de crianças que não possuem controle de seus esfíncteres (Castro et al., 2004; Almeida et al., 2010). Nos Estados Unidos, a transmissão de *G. lamblia* através da água é mais frequente em comunidades montanhosas. Também predomina entre pessoas que obtêm água de fontes sem tratamento de filtração adequado (São Paulo, 2002).

Durante o outono e o inverno de 2004 e 2005, um surto de giardíase ocorreu em Bergen, Noruega. Mais de 1.500 pacientes foram diagnosticados com giardíase. A água foi a causa considerada provável, devido à infiltração de esgoto de uma área residencial (Robertson et al., 2006).

Em 2007, foi feita uma revisão de estudos realizados em diversos países sobre a transmissão de protozoários pela água, sendo que 93% dos estudos eram provenientes da América do Norte e da Europa. Os autores observaram que 32% dos surtos notificados foram associados com sistemas de água potável contaminada com *G. lamblia* (Karanis et al., 2007).

2.5 Microrganismos indicadores higiênico-sanitários de alimentos e água

Microrganismos indicadores são rotineiramente utilizados para avaliar as condições de segurança e higiene do produto final, assim como da

higiene empregada em seu processamento (Sant'ana et al., 2003). O termo microrganismo indicador pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismos, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente, é associado a microrganismos de origem intestinal, porém outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações (Forsythe, 2010).

De forma ideal, um indicador de segurança dos alimentos deve apresentar certas características importantes (Jay, 2005; Brasil, 2006b):

- a) ser detectável de forma fácil e rápida;
- b) ser facilmente distinguível de outros membros da microbiota do alimento;
- c) possuir um histórico de associações constantes com o patógeno cuja presença visa a indicar;
- d) estar sempre presente quando o patógeno de interesse estiver presente;
- e) ser um microrganismo cujas contagens sejam correlacionadas às quantidades do patógeno de interesse;
- f) possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno;
- g) possuir taxa de mortalidade que seja ao menos paralela à do patógeno e, de preferência, que persista por mais tempo do que este último;
- h) estar ausente dos alimentos que são livres de patógenos ou se estiver presente, deverá estar em baixas contagens.

Os microrganismos indicadores usualmente utilizados são os coliformes, *E. coli*, enterobactérias e estreptococos fecais (Forsythe, 2010). O grupo de coliformes totais é formado por bacilos Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de ácido e de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Pertencem à família Enterobacteriaceae, que é formada por 44 gêneros e 176 espécies de bactérias, incluindo os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* (Jay, 2005).

Os coliformes termotolerantes têm a mesma definição dos coliformes totais; porém, esse subgrupo inclui somente os gêneros capazes de fermentar lactose em 24 horas a 44,5 - 45,5°C com produção de gás. Essa limitação teve por objetivo selecionar apenas os coliformes de origem entérica – por isso foram chamados de coliformes fecais –; no entanto, atualmente sabe-se que alguns gêneros desse grupo têm origem não-fecal (Andrade, 2008; Silva et al., 2007).

E. coli é uma bactéria do grupo coliforme, de origem exclusivamente fecal, que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas; produz indol a partir do triptofano, não hidroliza a ureia e, apresenta atividade das enzimas β -galactosidase e β -glucuronidase. É considerada o mais específico indicador de contaminação fecal e de eventual presença de organismos patogênicos (Andrade, 2008; Brasil, 2004c).

O emprego dos coliformes na avaliação da qualidade da água tratada tem o intuito de verificar a presença de organismos patogênicos. A presença de indicadores pode significar falhas no tratamento, na distribuição ou

na higiene do reservatório de água. As bactérias e vírus são inativados no processo de desinfecção, enquanto os protozoários e helmintos são preponderantemente removidos por meio da filtração. Os organismos apresentam-se na seguinte ordem crescente de resistência à desinfecção: bactérias, vírus, protozoários, helmintos (Brasil, 2006b).

Na análise microbiológica da água, os coliformes possuem o papel de indicadores da inativação de bactérias patogênicas por meio da desinfecção (Brasil, 2006b). A determinação da concentração dos coliformes assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da presença de microrganismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica, tais como febre tifoide, febre paratifoide, disenteria bacilar e cólera (Andrade, 2008; São Paulo, 2010).

2.6 Boas Práticas no preparo de alimentos: definição e legislação

Boas Práticas (BP) são procedimentos adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. A Resolução RDC nº 216 da ANVISA, de 15 de setembro de 2004 (Brasil, 2004b) estabelece os procedimentos de BP para serviços de alimentação. Para a avaliação da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, foi criada a RDC nº 12 (Brasil, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos. Essa resolução tornou-se um instrumento importante, já que auxilia na elucidação das DTA e na avaliação da qualidade sanitária dos

estabelecimentos que produzem refeições, ao determinar parâmetros aceitáveis para microrganismos em diferentes alimentos.

No Estado do RS, foi criada em 2006, a Portaria nº. 542, da Secretaria de Saúde, que compreende uma lista de verificação de boas práticas para serviços de alimentação baseada na Legislação Federal RDC nº 216. Em 2009, a Portaria nº 542 transformou-se na Portaria nº 78, após sofrer ajustes (RS, 2009).

Para as escolas, ainda não foi formulada uma legislação própria de BP para produção de alimentos. No entanto, dentro da Política Nacional de Alimentação e Nutrição – PNAN – do FNDE e Ministério da Saúde – MS - há um conjunto de recomendações denominadas “Dez Passos para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas” (Brasil, 2004d). Estas recomendações incluem a sensibilização e capacitação dos profissionais responsáveis pela alimentação nas escolas, no sentido de produzir e oferecer alimentos mais saudáveis. Recomenda, ainda, que os locais de produção e fornecimento de refeições devem adotar procedimentos que visem à segurança sanitária dos alimentos ofertados aos escolares. Aborda também questões referentes ao abastecimento de água potável, às instalações, aos equipamentos e utensílios, ao manejo de resíduos, ao controle de pragas e roedores, ao fluxo de preparo, à formação dos manipuladores de alimentos e à responsabilidade de pessoa comprovadamente capacitada.

Em 2006, foi publicada a portaria interministerial nº 1010, do Ministério da Educação e do Ministério da Saúde sobre alimentação escolar. No artigo 5º, dessa legislação, recomenda-se que, para alcançar uma

alimentação saudável no ambiente escolar, ações devem ser implementadas, dentre as quais, conhecer, fomentar e criar condições para a adequação dos locais de produção e fornecimento de refeições às BP. Deve ser considerada também a importância do uso da água potável para consumo (Brasil, 2006c).

2.7 Legislação Brasileira para a qualidade da água

A Portaria nº. 518, de 25 de março de 2004 (Brasil, 2004c) estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano. Define como padrão microbiológico para a água potável, a ausência de coliformes termotolerantes ou *E. coli* em 100 mL de amostra e ausência de coliformes totais na saída do tratamento. No parágrafo 8 do capítulo IV dessa legislação, referente também ao padrão de potabilidade da água, recomenda-se a inclusão de pesquisa de organismos patogênicos, com o objetivo de atingir, como meta, um padrão de ausência, dentre outros, de cistos de *Giardia sp.* e oocistos de *Cryptosporidium spp.* (Brasil, 2004c).

A legislação federal (RDC nº. 216/2004) e a legislação estadual (Portaria nº. 78/2009) preveem o uso de água potável nos seus diversos estados físicos para usos diretos e indiretos com alimentos. A utilização de fontes alternativas de abastecimento é permitida, desde que não exista risco de contaminação e que seja realizada análise de potabilidade com frequência semestral, cujo laudo esteja disponível na unidade (Brasil, 2004b; RS, 2009).

Essas legislações também estabelecem que os reservatórios de água dos serviços de alimentação devem ser “edificados e ou revestidos de

matérias que não comprometam a qualidade da água, livres de rachaduras, vazamentos, infiltrações, descascamentos e em adequado estado de higiene e conservação”. Além disso, devem ser higienizados a cada seis meses (Brasil, 2004b; RS, 2009).

2.8 Equipamentos e superfícies

O contato de alimentos com superfícies, utensílios e equipamentos no preparo e distribuição da alimentação escolar deve receber atenção especial. A deposição de microrganismos em uma superfície mal higienizada, com presença de resíduos que servirão de nutriente para o crescimento microbiano, resultará na formação de biofilmes. As células microbianas fixam-se às superfícies onde iniciam seu processo de multiplicação e, quando se liberam, contaminam os alimentos, podendo causar riscos à saúde dos escolares (Andrade, 2008; Gelli et al., 2005; Pires et al., 2005; Forsythe, 2010).

Segundo Gentil et al. (2010), equipamentos e utensílios mal higienizados também têm sido incriminados em surtos de DTA principalmente na indústria de alimentos. Os procedimentos de limpeza devem garantir a remoção completa das bactérias das superfícies nas linhas de processamento dos alimentos. Portanto, para que se promova um controle eficiente da higienização, é necessária a implementação de BP.

Para avaliar as condições de higiene em que os alimentos são preparados, recomenda-se analisar as superfícies que entram em contato com eles em todas as etapas da preparação. Quanto aos equipamentos e utensílios utilizados nos serviços de alimentação, eles são classificados como

representando 'alto' ou 'baixo' risco de contaminação dos alimentos. Os de 'alto' risco podem estar em contato com o alimento, desde a recepção até a distribuição, podendo fazer parte de diferentes etapas do processamento e manipulação dos alimentos. Como exemplo, pode-se citar as bancadas, monoblocos, placas de corte, panelas, moedor de carnes, cortador de frios, liquidificador, facas, dentre outros. Os de 'baixo' risco entram em contato com o alimento apenas durante o consumo, não havendo tempo suficiente para que haja a multiplicação de bactérias e produção de toxinas. São exemplos desse grupo pratos, bandejas e talheres (Silva Jr., 2008).

Um processo de adesão ocorre quando a contagem de microrganismos na superfície atinge valores entre 10^4 UFC/cm² e 10^5 UFC/cm² (Andrade, 2008). Quanto aos padrões satisfatórios de número de microrganismos na análise de superfícies, não há uma legislação brasileira que os determine, e sim valores de referência adotados a partir de critérios internacionais e estudos nacionais.

Há poucas normas ou diretrizes publicadas sobre o nível aceitável de contaminação por microrganismos em superfícies. No trabalho de Aycicek et al., (2006) foi adotado o critério de <10 UFC/cm² para mesófilos heterotróficos como parâmetro de equipamentos higienizados em uma cozinha hospitalar na Turquia.

Na Tabela 2, estão descritos os critérios internacionais e valores de referência adotados no Brasil para contagem de bactérias em superfícies que entram em contato com alimentos (Silva Jr., 2008).

Esta tabela apresenta valores desiguais, devido aos parâmetros adotados em diferentes países. Muitas vezes, a recomendação americana, da *American Public Health Association* (APHA, 1992) que é de 2 UFC/cm², é considerada rígida para as cozinhas brasileiras.

Já a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) admite contagem de até 49 UFC/cm² de superfície, valor que equivale à recomendação de Silva Jr (2008).

TABELA 2: Critérios e valores de referência para contagem de bactérias heterotróficas em UFC/cm² em superfícies em contato com alimentos.

APHA (Speck, 1984)	OPAS (Moreno, 1982)	Harrigan & Maccance (1976)	Silva Jr. (1993)
≤ 2 = satisfatório; > 2 = insatisfatório	0 - 10 = Excelente; 11-29 = Bom 30 - 49 = Regular 50 - 99 = Mau ≥ 100 = Péssimo	≤ 5 = satisfatório 5 - 25 = lavar novamente > 25 = não satisfatório	≤ 50 = satisfatório; > 50 = insatisfatório; Para utensílios de baixo risco: ≤ 100 = satisfatório > 100 = insatisfatório

Fonte: Silva Jr., 2008, Moreno, 1982

Souza & Sousa (2004), ao analisarem as condições sanitárias de equipamentos e superfície de preparo de alguns estabelecimentos comerciais de João Pessoa, verificaram níveis elevados de contaminação. As contagens médias de bactérias mesófilas e de *Staphylococcus* spp. variaram entre 10¹ e 1,6x10⁴ UFC e de 2,3x10² UFC, respectivamente.

Gelli et al. (2005) pesquisaram a contagem total de bactérias mesófilas em equipamentos e utensílios utilizados no pré-preparo de carne

bovina, de um restaurante da Universidade Federal de Uberlândia e verificaram que a contagem foi de 10^1 UFC – na mesa de pré-preparo; resultado satisfatório segundo critério de Silva Jr.(2008) – a $3,6 \times 10^6$ UFC – no afiador –, indicando uma higienização inadequada desse equipamento.

2.8.1 ATP Bioluminescência

A higiene de superfícies envolvidas no preparo das refeições é um fator crítico de segurança dos alimentos, pois pode aumentar o risco de contaminação cruzada. A avaliação do procedimento de higienização de equipamentos e utensílios, que entram em contato direto com os alimentos, constitui uma preocupação constante e necessita de métodos rápidos de aferição para garantir a qualidade dos produtos processados e a segurança dos consumidores (Pires et al., 2005; Sherlock, et al., 2009). Os métodos tradicionais de análises microbiológicas de superfícies são trabalhosos e demorados e não detectam a presença de resíduos alimentares que são fonte de contaminação e diminuem a eficiência dos sanitizantes (Aycicek et al., 2006; Costa et al., 2006; Sherlock, et al., 2009).

O luminômetro é uma opção para a rápida medição de resíduos e microrganismos em diferentes superfícies de utensílios e equipamentos através da bioluminescência. Esse fenômeno é produzido através de reações catalisadas por uma enzima que resulta na emissão de luz. A bioluminescência é encontrada em algumas espécies de insetos, muitos deles pertencentes à Família *Lampyridae* da Ordem *Coleoptera*. São besouros, que emitem luz de

órgãos especializados abdominais, como por exemplo o vagalume (Pires et al., 2005; Saquet, 2005).

O luminômetro tem como princípio a determinação da quantidade de trifosfato de adenosina (ATP) presente sobre as superfícies avaliadas, seja de origem microbiana ou não (Aycicek et al., 2006; Saquet, 2005; Sherlock, et al., 2009). O ATP, que é um nucleotídeo transportador de energia para todas as células, é indispensável para a vida celular, pois armazena energia em suas ligações químicas. É encontrado nos animais, plantas, bactérias, leveduras etc. Resíduos de alimentos apresentam elevada quantidade de ATP, assim como os microrganismos. Dessa forma, após a higienização, ao diminuir resíduos orgânicos e contaminação microbiana, as fontes de ATP, conseqüentemente, devem estar reduzidas (Aycicek et al., 2006; Pires et al., 2005; Saquet, 2005).

Para obter-se a leitura do ATP nas superfícies, um suabe é passado na superfície e depois disso é imerso no líquido com reagente luciferase/luciferina. A reação catalisada pela enzima luciferase utiliza a energia química contida nas moléculas de ATP para conduzir a descarboxilação oxidativa da luciferina, tendo como resultado a produção de luz. Portanto, quando o ATP entra em contato com o reagente, um aviso de luz é emitido, em proporção direta à quantidade de ATP presente no suabe (medida em unidades relativas de luz – URL –). Dessa forma, quanto maior for o URL, maior será a quantidade de matéria orgânica presente nas superfícies avaliadas. O luminômetro mede a quantidade de luz gerada e informa o nível de contaminação em poucos segundos (Aycicek et al., 2006; Pires et al., 2005).

São diversos os estudos que apontam quantidades limiares de URL. Segundo Griffith et al. (2000) e Lewis et al. (2008), utilizando o luminômetro *Biotrace* da 3M e suas *Clean-Trace* próprios para este equipamento, o limiar aceitável é de até 500 URL/100 cm² de superfície analisada. Segundo Lewis et al. (2008), este valor de referência de 500 URL foi baseado nos resultados de uma ampla variedade de superfícies no ambiente hospitalar e doméstico, com diferentes protocolos de limpeza. Com base nos resultados, foi utilizado um valor de referência mais rigoroso (250 URL) para alguns locais.

Outros pesquisadores, com o mesmo equipamento, escolheram as recomendações do fabricante e obtiveram os seguintes dados: as superfícies com resultado até 150 URL são consideradas em condições higiênicas satisfatórias; entre 151 e 300 URL, em condições de alerta e, acima de 300 URL, as superfícies são consideradas em condições higiênicas insatisfatórias (Costa et al., 2006; Pires et al., 2005).

Não há estudos anteriores que referenciem o uso de ATP bioluminescência para monitoramento das condições higiênico-sanitárias em equipamentos e utensílios de escolas. No presente estudo foi utilizado o equipamento ATP *Luminometer* (Higiene, System SURE II®, Camarillo, US) e os resultados <30 URL/100cm² foram consideradas como aceitáveis (Bartz et al., 2010) para as superfícies analisadas de equipamentos e utensílios próprios para a manipulação de alimentos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar as condições higiênico-sanitárias das superfícies de preparo da alimentação escolar, bem como da água e dos alimentos servidos em escolas públicas atendidas pelo PNAE no município de Porto Alegre.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar *E.coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e verificar a presença de *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. nos alimentos servidos aos escolares no dia da visita a escola.
- Verificar a presença de mesófilos heterotróficos, coliformes totais, *E. coli*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* sp., *Shigella* sp. e material orgânico na água da torneira do local onde são preparados os alimentos para os escolares;
- Quantificar mesófilos heterotróficos presentes nas superfícies de contato de equipamentos (bancada, refrigerador e liquidificador), e utensílios (pratos e placa de corte) utilizados para o preparo da alimentação escolar;
- Analisar a presença de matéria orgânica, através da ATP bioluminescência, nas superfícies de contato de equipamentos (bancada, refrigerador e liquidificador) e utensílios (pratos e placa de corte) utilizados para o preparo da alimentação escolar;

- Verificar as condições de BP e classificar em níveis de risco sanitário as escolas públicas de Porto Alegre – RS, por meio de uma lista de verificação de boas práticas elaborada de acordo com as legislações vigentes;

4 Material e Métodos

A metodologia específica utilizada em cada experimento que compõe este trabalho está descrita em cada um dos artigos que constam no capítulo 5 (Resultados).

Todas as ações que compuseram a logística de coleta e processamento das amostras estão descritas a seguir.

4.1 Local

O estudo foi conduzido na cidade de Porto Alegre, capital do estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, no período de outubro de 2008 a junho de 2009.

4.2 Delineamento do estudo

Foi conduzido um estudo transversal em escolas públicas de Porto Alegre/RS, atendidas pelo PNAE, em que estavam matriculados no mínimo 100 alunos. Dentre as escolas que obedeciam a esse critério (n=282), foi calculado o número de escolas a serem avaliadas (n=120). As unidades avaliadas foram sorteadas a partir dos cadastros de escolas públicas disponíveis na Secretaria Estadual de Educação e na Secretaria Municipal de Educação. Todas as escolas foram visitadas, sem aviso prévio, após autorização das Secretarias de Educação. Foi requerido o consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2) de todos os entrevistados. O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de

Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Projeto nº 17265).

4.3 Pessoal envolvido no estudo

- 1 Coordenador geral do estudo
- 1 Coordenador de campo
- 2 Pesquisadores de campo nutricionistas
- 2 Bolsistas acadêmicos do curso de nutrição
- 3 Bolsistas para os Laboratórios
- 1 Empresa para o transporte das amostras de motoboy
- Suporte do pessoal administrativo do Centro Colaborador de Alimentação e Nutrição para compra do material

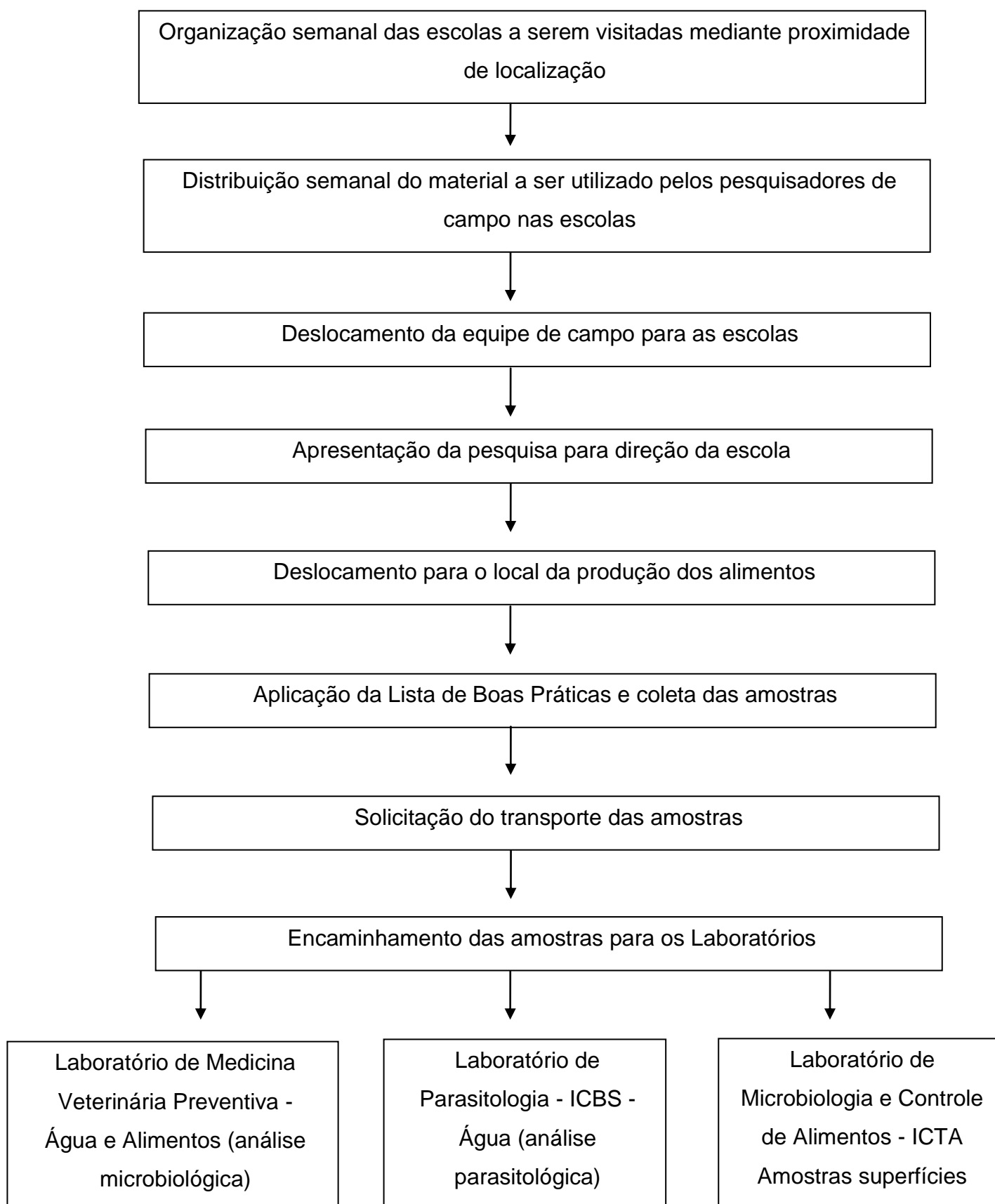
4.4 Seleção e treinamento de pessoal

A equipe foi contratada através de uma seleção realizada no CECANE – UFRGS, com ênfase na análise do currículo e entrevista. A equipe de campo recebeu um treinamento teórico-prático de 4 horas, enfocando as Boas Práticas e os procedimentos de coleta de amostras.

4.5 Projeto Piloto

Foi realizado um projeto piloto, em 19 escolas não selecionadas no processo de amostragem do presente trabalho, que permitiu testar e treinar as questões de logística. Nesta etapa foi realizada a padronização do instrumento de coleta de dados.

4.6 Fluxograma de coleta e transporte das amostras



5 RESULTADOS

Os resultados deste trabalho são apresentados em forma de artigos científicos. Cada subtítulo deste capítulo corresponde a um dos artigos desenvolvidos.

5.1 Artigo 1

5.1.1 Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão

Publicado na Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), volume 30 – Número 3 – Julho/Setembro 2010 (Especial do Curso de Nutrição da UFRGS)

A cópia do artigo original encontra-se em anexo (Apêndice 1).

**DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS, PRINCIPAIS AGENTES
ETIOLÓGICOS E ASPECTOS GERAIS: UMA REVISÃO**

*FOODBORNE DISEASES, MAIN ETIOLOGIC AGENTS AND GENERAL
ASPECTS: A REVIEW*

Ana Beatriz Almeida de Oliveira, Cheila Minéia Daniel de Paula, Roberta
Capalonga, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, Eduardo Cesar Tondo

RESUMO

Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) compõem um grave problema de saúde pública em nível mundial. A análise crítica e a divulgação dos principais aspectos relacionados das DTA pode ser um importante fator para a prevenção dessas doenças. O presente estudo realizou uma breve revisão sobre as DTA, objetivando contribuir para um melhor entendimento de alguns dos seus principais agentes etiológicos, identificando os alimentos comumente envolvidos nos surtos, os fatores causais mais significativos, assim como as características e impactos sociais relacionados a essas doenças.

Palavras-chave: *Doenças transmitidas por alimentos; surtos alimentares*

ABSTRACT

Foodborne Diseases (FBD) comprises a serious public health problem worldwide. Critical analysis of the main aspects of FBD may be an

important factor for preventing these diseases. This study is a brief review of the FBD in order to provide a better understanding of the main etiologic agents, identifying the foods commonly associated with outbreaks, the most significant causal factors, as well as the characteristics and social impacts related to these diseases.

Keywords: *Foodborne diseases; outbreaks*

Características Gerais de Doenças Transmitidas por Alimentos

Existem aproximadamente 250 tipos de doenças alimentares e, dentre elas, muitas são causadas por microrganismos patogênicos, os quais são responsáveis por sérios problemas de saúde pública e expressivas perdas econômicas. As síndromes, resultantes da ingestão de alimentos contaminados por esses microrganismos são conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (1,2), Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) ou simplesmente toxinfecções (3).

As DTA podem ser identificadas quando uma ou mais pessoas apresentam sintomas similares, após a ingestão de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos, suas toxinas, substâncias químicas tóxicas ou objetos lesivos, configurando uma fonte comum (1,3). No caso de patógenos altamente virulentos, como o *Clostridium (C.) botulinum* e a *Escherichia (E.) coli* O157:H7, assume-se que apenas um caso pode ser considerado um surto (1,4,5).

A maioria dos surtos tem sido relacionada à ingestão de alimentos com boa aparência, sabor e odor normais, sem qualquer alteração organoléptica visível. Isso ocorre porque a dose infectante de patógenos alimentares geralmente é menor que a quantidade de microrganismos necessária para degradar os alimentos. Esses fatos dificultam a rastreabilidade dos alimentos causadores de surtos, uma vez que os consumidores afetados dificilmente conseguem identificar sensorialmente os alimentos fonte da DTA. Alimentos com características organolépticas alteradas dificilmente causam surtos alimentares, uma vez que não são consumidos devido à sensação repulsiva que causam aos consumidores. Nessas condições, a contaminação microbiana é elevada, muitas vezes ultrapassando números da ordem de 10^8 UFC/g de alimento (6) e o hábito de “provar para ver se está bom” pode ser bastante perigoso.

De acordo com Carmo e colaboradores, (7) os surtos de DTA podem ser investigados através da identificação etiológica laboratorial, exames clínicos, bromatológicos ou por critérios epidemiológicos. Por esses métodos é possível obter conclusões sobre seus agentes etiológicos, veículo, local de ocorrência e demais características pertinentes.

Relatos nacionais e internacionais demonstram que a maioria dos casos de DTA não são notificados às autoridades sanitárias, pois muitos dos patógenos alimentares causam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não busque auxílio médico (6,8,9). Em muitos países, inclusive no Brasil, os surtos notificados, geralmente, se restringem àqueles que envolvem um maior número de pessoas ou quando a duração dos sintomas é mais prolongada (7).

Os sintomas mais comuns de DTA incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e, por vezes, febre. Na maioria dos casos, a duração dos sintomas pode variar de poucas horas até mais de cinco dias, dependendo do estado físico do paciente, do tipo de microrganismo ou toxina ingerida ou suas quantidades no alimento. Conforme o agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser mais grave e prolongado, apresentando desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (6,7,10).

Mesmo que a dificuldade de registro das DTA seja um problema mundial, os relatos oficiais demonstram um aumento significativo de DTA. Entre alguns dos fatores que contribuem para o aumento do registro dessas doenças, pode-se destacar: a) o aumento da população, b) o aumento de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, c) o processo de urbanização, muitas vezes, desordenado, d) a produção e consumo de alimentos em condições inadequadas, e) o aumento da produção de alimentos e do comércio internacional, f) a melhoria dos sistemas de vigilância epidemiológica e, g) a melhoria dos métodos de diagnóstico e estrutura laboratorial para análises. Além desses fatores, podem ser incluídas outras causas que colaboram de forma menos expressiva para o aumento da ocorrência das DTA, como por exemplo, a utilização de novas modalidades de produção, o aumento no uso de aditivos, mudanças de hábitos alimentares, alterações climáticas e ambientais, a globalização e as facilidades atuais de deslocamento da população, em nível nacional e internacional (11,12).

Boa parte dos surtos alimentares resulta da associação entre o consumo de alimentos contaminados através da manipulação inadequada e conservação ou distribuição em condições impróprias (5). Alimentos contaminados por pequenas quantidades de microrganismos podem não causar surtos alimentares, porém se forem conservados em condições que permitam a multiplicação desses agentes microbianos, as chances para a ocorrência de surtos aumenta significativamente. Por outro lado, algumas bactérias, como *Listeria (L.) monocytogenes* e *E. coli* O157:H7, apresentam doses infectantes muito baixas, possibilitando que a simples contaminação e a ausência de alguma etapa de processo que elimine esses microrganismos possa ocasionar surtos (1,13). Os patógenos envolvidos em surtos alimentares podem ser bactérias, parasitos, vírus e fungos micotoxigênicos (1,13,14), sendo que muitos estudos apontam as bactérias como as principais causadoras de DTA (7,15). Outros estudos apontam os vírus como os principais responsáveis por surtos alimentares (6,13), contudo, sem dúvida, a pesquisa desses últimos é menos frequente nos alimentos envolvidos em surtos.

Dados epidemiológicos disponibilizados por órgãos de controle sanitário dos Estados Unidos (EUA) e do Brasil demonstram esses fatos. Por exemplo, dentre os 2.167 surtos registrados, com etiologia conhecida, nos EUA, de 1998 a 2002, 55% foram causados por bactérias, 33% por vírus e 1% por parasitos (1). No Brasil, entre os anos 1999 a 2008, as bactérias foram identificadas como o agente etiológico responsável de 84% dos surtos, enquanto que os vírus foram implicados em 14% do total de casos (16).

Em São Paulo, dentre os surtos alimentares notificados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), no período de 1999 a 2008, 62% foram causados por bactérias, 25% por vírus e 10% por parasitos (17). No Rio Grande do Sul, Estado que conta com um dos mais ativos serviços de vigilância sanitária e epidemiológica do Brasil, foram notificados 3.200 surtos de 1998 a 2006, sendo que a maioria deles foi causada por bactérias, entre elas *Salmonella*, *Staphylococcus (S.) aureus* e coliformes termotolerantes. (7,18).

Principais Agentes Etiológicos Envolvidos em DTA

Os alimentos são veículos através dos quais, muitos microrganismos causadores de DTA podem chegar a um novo hospedeiro com condições adequadas para colonização (19). Microrganismos patogênicos podem entrar na cadeia alimentar em diferentes etapas do processo. Como são altamente versáteis, podem se adaptar ao ambiente produtivo, conseguindo sobreviver, multiplicar e/ou produzir compostos tóxicos (20).

Greig e Ravel (5) estudaram as DTA ocorridas nos EUA, Canadá, União Européia (UE), Austrália, Nova Zelândia e outros países. Eles analisaram relatórios publicados de surtos identificados no período entre 1988 e 2007, de fontes governamentais e artigos científicos. No total dos relatórios, foram registrados 4.093 surtos, destes, 70% foram causados por *Salmonella* sp., *Norovirus* e *E. coli*.

Em estudo realizado por Hughes et al., (21) na Inglaterra e País de Gales, onde foi realizado levantamento da ocorrência de surtos de DTA de

1992 a 2003, foi verificado que *Salmonella* spp. foi responsável por mais da metade dos casos (52%) e que *C. perfringens* foi a segunda causa dos surtos (29%). Na Áustria, de um total de 606 surtos alimentares registrados em 2005, 76% foram causados por *Salmonella* spp. e 23% por *Campylobacter* sp. (22).

Michino & Otsuki (23) realizaram uma revisão dos surtos de DTA ocorridos na alimentação escolar, no Japão, de 1987 a 1996, com objetivo de determinar os fatores de risco que provocaram estas manifestações. Nesse trabalho foram estudados 268 surtos. Os microrganismos mais envolvidos foram *Campylobacter jejuni* (17%), *Salmonella* spp.(16%), *E. coli* (13%) e *Staphylococcus* spp. (12%).

As populações de patógenos que causam DTA de maior importância para a segurança dos alimentos não são estáticas e apesar dos esforços significativos por todas as partes envolvidas, ainda há um número considerável de DTA e novos desafios com os microrganismos emergentes ou re-emergentes como *E. coli* O157:H7 e *Vibrio (V.) cholerae* (19,20).

Entre os surtos notificados nos EUA, de 1998 a 2002, *Salmonella* Enteritidis (SE) foi o sorotipo responsável pelo maior número de surtos. No entanto, *L. monocytogenes* foi a causa da maioria das mortes (24).

Na França, em 2005, *Salmonella* foi a principal causa de hospitalização e de morte por gastroenterite bacteriana confirmada em laboratório. Por outro lado, a listeriose, apesar de rara, ocupou o segundo lugar como causa de morte por enfermidade de origem alimentar. *Campylobacter* ocupou o segundo lugar nas DTA confirmadas em laboratório, depois da

Salmonella. Esses dois patógenos, juntos, foram responsáveis por 71-85% de todas as infecções bacterianas de origem alimentar incluídas neste estudo (9).

Em uma análise de artigos em periódicos sobre surtos na China, por contaminação bacteriana, num período de 12 anos (1994 a 2005), foram identificados 1.082 surtos de DTA com 57.612 pessoas infectadas e 51 óbitos notificados. Os agentes etiológicos foram investigados e indicaram que o *V. parahaemolyticus* causou o maior número de surtos (19,5%), seguido por *Salmonella* (17%), *Bacillus (B.) cereus* (13%), *Proteus* (11%) e *S. aureus* (8%). Das 57.612 pessoas infectadas, os agentes etiológicos que causaram o maior número de infecções foram *Salmonella* (22% dos casos), *V. parahaemolyticus* (19%), *Proteus* (12%), *B. cereus* (10%) e casos com mais de uma bactéria envolvida corresponderam a 11% dos casos. *C. botulinum* foi o agente que provocou a maioria das mortes (63%) (25).

No Brasil, o perfil epidemiológico das DTA ainda é pouco conhecido. Somente alguns estados ou municípios dispõem de estatísticas e dados publicados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais freqüentemente implicados, população de maior risco e fatores contribuintes. De acordo com os dados disponíveis de surtos, esses apontam como agentes mais freqüentes os de origem bacteriana e dentre eles, *Salmonella spp*, *E. coli*, *S. aureus*, *Shigella spp*, *B. cereus* e *C. perfringens* (11).

Com o intuito de obter mais informações a respeito das DTA no Brasil, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde, desenvolveu o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA). Esse sistema, implantado em 1999, em

parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e o Instituto Pan-Americano de Alimentos, da Organização Pan-Americana de Saúde, visa reduzir a incidência das DTA no Brasil (26).

Dados da SVS a respeito dos surtos registrados, entre 1999 a 2008, demonstraram que 6.062 surtos de DTA foram registrados, com acometimento de 117.330 pessoas (mediana de sete doentes por surto) e 64 óbitos. As regiões Sul e Sudeste notificaram 83% dos surtos de DTA. O Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina foram os Estados que apresentaram maior registro de surtos, o que pode estar relacionado com a melhor implantação do sistema de VE-DTA nos municípios. Foi verificado ainda, que *Salmonella* spp. foi responsável por 1.275 surtos (42%), seguida pelo *S. aureus* responsável por 600 surtos (20%). *B. cereus* foi o terceiro principal agente, sendo responsável por 205 surtos (7%) (16).

Principais Alimentos Envolvidos em Surtos de DTA

Crescimento do comércio internacional e facilidades atuais de deslocamento da população aceleram a disseminação de agentes patogênicos e contaminantes em alimentos, aumentando a nossa vulnerabilidade. Atualmente, o mundo é interligado e interdependente, assim, surtos de DTA locais têm se tornado uma ameaça potencial para o mundo inteiro (27).

Em 1991, uma epidemia de cólera nas Américas, provavelmente com início, na água contaminada e frutos do mar, no Peru, rapidamente se

espalhou por toda a América, resultando em aproximadamente 400.000 casos notificados e mais de 4.000 mortes em vários países (28).

Através da globalização, da comercialização e distribuição, alimentos contaminados podem afetar a saúde de pessoas em numerosos países ao mesmo tempo. A identificação de um único ingrediente alimentar contaminado pode levar à retirada de literalmente toneladas de produtos alimentícios, com consideráveis perdas econômicas na produção e embargos nos negócios, bem como danos à indústria turística (27). Sendo assim, os países têm cada vez mais ampliado sua percepção da necessidade e da importância de um sistema de vigilância e da adoção de medidas para garantir a segurança dos alimentos, entre elas a identificação do alimento ou dos alimentos envolvidos em cada DTA (29).

Em 1992, a Sistemática Nacional de Vigilância de Surtos de Doenças Infecciosas Intestinais (DII) foi introduzida na Inglaterra e País de Gales para fornecer informações completas sobre organismos causadores, fontes ou em veículos de infecção e modos de transmissão. Em um estudo realizado por O'Brien e colaboradores (30) foram comparadas as informações desse sistema com os artigos de revisão publicados na literatura entre 1992 e 2003, a fim de avaliar o efeito potencial de viés de publicação sobre a política de segurança dos alimentos. Durante o período de estudo, 1.763 surtos de DII foram notificados. Cinquenta e cinco artigos foram publicados na literatura, na maioria destes surtos, um único alimento foi relatado como veículo de transmissão. Segundo estes autores, é importante salientar, que em mais de um quarto (27%) dos surtos do sistema de vigilância, os investigadores foram

incapazes de identificar um veículo de infecção. Segundo este estudo, as provas da implicação de veículos de infecção de origem alimentar estavam disponíveis para a grande maioria (98%) dos surtos da literatura. Evidência estatística, a partir de um caso-controle, apontou que era mais provável o veículo ser relatado nos surtos da literatura (78%) do que nos surtos registrados no sistema de vigilância (24%). Entre os alimentos mais frequentemente implicados nos surtos relatados, tanto pela literatura quanto pelo sistema de vigilância, destacaram-se o frango, a carne e produtos derivados, sobremesas, leite e produtos lácteos. Além destes, com frequência um pouco menor, estavam saladas, legumes e frutas, ovos e produtos a base de ovos.

Corroborando com este estudo, recentemente, o trabalho de Greig e Ravel (5) também apontou que alimentos com vários ingredientes, como por exemplo, ovos, carne e outros foram os mais envolvidos em DTA. O ovo foi o alimento mais envolvido em surtos de *Salmonella* sp. apontado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA (2009), (24) assim como em diversos estudos já citados como o de Greig e Ravel (5), o de Hughes et al (21) e o de Much et al (22).

Estudo realizado no Japão, que levantou a ocorrência de surtos de DTA, entre 1987 e 1996, os alimentos crus e os parcialmente cozidos, como saladas e produtos com ovos foram envolvidos em 62 surtos (23).

Nos últimos cinco anos, o CDC recebeu uma média de 50 relatos de isolamento de *SE* a cada semana. Em 2010, durante o final de junho e início de julho, esse número passou para 200 relatos de casos de *SE* a cada semana.

Após a identificação deste aumento no isolamento de *SE*, o Food and Drug Administration (FDA), CDC e parceiros realizaram uma investigação e observaram que havia, dentre os surtos investigados, como ponto em comum, restaurantes ou eventos que receberam ovos de uma única empresa. Desde então, o FDA está realizando uma extensa investigação nas empresas, o que envolve coleta, análise e registros em busca de potencial fonte de contaminação. Em agosto de 2010, a empresa investigada fez o “recall” voluntário de 220 milhões de ovos presentes no mercado, depois do registro de centenas de casos de salmonelose. Alguns dias depois, o FDA ampliou para 380 milhões a devolução de ovos que poderiam estar contaminados com a bactéria, em um dos maiores “recalls” deste produto na história recente (31). Este fato só reforça a importância dos alimentos de origem animal como veículo de contaminação.

No Brasil, segundo dados do Sistema de Vigilância Epidemiológica, no período de 1999 a 2008, de um total de 3.984 surtos investigados, 23 % tiveram como principal alimento envolvido preparações a base de ovos crus e/ou mal cozidos, 17% ocorreram devido ao consumo de alimentos mistos, 12% devido ao consumo de carnes vermelhas, 11% por sobremesas, 9% água, 7% leite e derivados e em 21% dos casos não foi possível identificar o alimento envolvido (16).

Corroborando com esses estudos, Costalunga e Tondo (8) relataram que, no Rio Grande do Sul, *Salmonella* spp. foi responsável por 35,7% dos 323 surtos alimentares investigados no período de 1997 a 1999, sendo a “maionese

caseira” o alimento mais envolvido, tanto na forma de saladas (32%), como na forma de coadjuvante de outros alimentos de preparação caseira (2,2%).

Segundo Oliveira, Brandelli e Tondo, (32) no período de 2001 a 2002, dentre os alimentos envolvidos em surtos ocorridos no RS, 30% envolveram preparações a base de ovos.

Locais de Maior Ocorrência de Surtos de DTA

Conforme estudo realizado por Hughes et al, (21) o qual investigou o local da ocorrência dos surtos na Inglaterra e País de Gales, foi constatado que a maioria deles ocorreu no comércio de alimentos – cantinas, hotéis, restaurantes e bares – e em locais com produção de alimentos para coletividades, como residências para grupos coletivos, colônias de férias, casas de cuidado e bases militares.

Na Áustria, em 2005, o comércio também foi considerado o primeiro lugar de ocorrência de surtos alimentares, incluindo restaurantes e cafeterias, seguido das festas familiares e depois as creches (22).

Conforme o CVE, no Estado de São Paulo, entre 1999 a 2008, 34% dos surtos por *Salmonella* sp. também ocorreram em restaurantes ou outros serviços de alimentação comerciais e 22% dos surtos ocorreram em residências (17).

No Rio Grande do Sul, em um estudo (8) onde foram analisadas as salmoneloses ocorridas no período de 1997 a 1999, constatou-se que os locais de maior índice de ocorrência foram às residências (44%), seguidos pelos estabelecimentos comerciais (25%). Resultados semelhantes foram obtidos em

outro estudo sobre surtos de DTA ocorridos no RS (15), no qual as residências gaúchas também foram os locais de maior ocorrência de surtos (43%), seguidas de estabelecimentos comerciais (18%) e refeitórios de empresas (14%).

Principais Fatores Causais de Surtos de DTA

Conforme o CDC, (1) os fatores que contribuem para a ocorrência das DTA podem ser agrupados como: a) aqueles que influenciam na contaminação dos alimentos, b) nos que permitem a proliferação dos patógenos e c) nos que permitem a sobrevivência dos patógenos nos alimentos.

O fator de contaminação mais comumente relatado foi o contato da mão do manipulador com o alimento (1). Estudos indicam que uma efetiva lavagem de mãos pode evitar a transmissão das infecções entéricas (13). Num estudo de revisão sobre surtos em escolas dos EUA, de 1973 a 1997, mais da metade (57%) dos surtos alimentares foram atribuídos à contaminação na manipulação, durante o preparo dos alimentos (33).

S. aureus tem sido um microrganismo frequentemente envolvido em surtos de toxinose alimentar, estando muito associado à manipulação inadequada dos alimentos, uma vez que é comumente encontrado na pele, mucosas do trato respiratório superior e intestino de humanos (23,34,35). Diversas cepas de *S. aureus* podem produzir enterotoxinas, desde que ocorram condições apropriadas, como por exemplo, temperaturas entre 10 e 46° C. Essas enterotoxinas são termo-resistentes, ou seja, podem resistir aos

processos de aquecimento, ao contrário das células bacterianas vegetativas que são eliminadas quando aquecidas acima de 60° C (35,36).

Nos EUA, foi realizado um estudo por Hedberg e colaboradores, (37) sobre o uso de perfis clínicos na investigação de surtos de origem alimentar em restaurantes, ocorridos entre 1982 e 1997, e notificados ao CDC. Segundo estes pesquisadores, as características clínicas dos surtos estão geralmente disponíveis antes dos resultados dos testes de laboratório. No total, 2.246 surtos foram incluídos no estudo: 697 (31%) com etiologia conhecida e 1.549 (69%) com etiologia indeterminada. *Salmonella* representou 65% dos surtos com etiologia conhecida, enquanto o *Norovírus* foi apontado, através do perfil clínico, em 54% dos surtos com etiologia indeterminada. O abuso de tempo em temperaturas inadequadas foi associado com surtos causados por *C. perfringens*, *B. cereus*, *S. aureus* e *Salmonella*, e também com os surtos de etiologia indeterminada com perfis clínicos como diarreia-toxina e vômitos-toxina. A falta de higiene pessoal foi associada a *Norovírus*, *Shigella* e *Salmonella*. Com este estudo, os pesquisadores concluíram que a rápida categorização do surto por quadro clínico, pode ajudar na identificação dos fatores que contribuíram para a ocorrência dos surtos e promover investigações oportunas e eficientes.

Segundo Pigott, (35) no caso de surtos cujo agente etiológico é o *C. perfringens*, especialmente envolvendo carnes e produtos derivados, o mesmo autor aponta o baixo controle de temperatura durante o armazenamento destes alimentos como a principal causa de ocorrência destes surtos.

A contaminação da matéria-prima por patógenos e a ingestão posterior desse alimento cru ou parcialmente cozido é outro fator de contaminação apontado, principalmente para surtos causados por bactérias patogênicas (1,12,21,23).

Dentro dos fatores que permitem a proliferação microbiana, a causa mais apontada pelos investigadores de surtos foi o prolongado tempo de exposição dos alimentos à temperatura ambiente. Já em relação aos fatores de sobrevivência dos patógenos, os mais citados são o tempo e a temperatura de cozimento insuficientes durante a cocção dos alimentos (1,12,13).

Como exemplo de cozimento insuficiente, Pakalniskiene et al. (38) relataram um surto de gastroenterite, causada por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *Salmonella* Anatum, que afetou cerca de 200 alunos e professores em novembro de 2006, depois de um jantar em escola de ensino médio em Copenhague, Dinamarca.

Na Holanda, em junho de 2008 uma conferência foi organizada pelo Serviço de Segurança dos Alimentos desse país, e pelas autoridades Européias desse setor, com objetivo de discutir os novos desafios para a segurança dos alimentos bem como estratégias e metodologias para combater as DTA causadas por microrganismos (20).

Estudo realizado no sul do Brasil, envolvendo surtos de salmonelose, constatou-se que algumas das principais razões para a ocorrência destes parecem estar relacionadas ao armazenamento impróprio dos alimentos e também pelo consumo de alimentos sem inspeção prévia (8,39).

O monitoramento da contaminação na cadeia alimentar, incorporado a vigilância e investigações epidemiológicas de surtos e casos esporádicos é importante fonte de informação, mas novas abordagens devem ser incrementadas. Essa informação pode ser usada para desenvolver novos métodos de rastreamento, como por exemplo, técnicas moleculares para detecção de isolados de espécies microbianas e a investigação comportamental dos microrganismos (20).

Considerações Finais

Com base nos estudos analisados, apenas uma pequena parcela dos casos de DTA estão registrados nos bancos oficiais dos sistemas da Vigilância Sanitária, evidenciando o problema mundial de sub-notificação. Os surtos registrados geralmente são aqueles que envolvem um maior número de pessoas ou aqueles que apresentam sintomas mais prolongados ou severos. Apesar desses entraves, dados mundiais registram um aumento significativo de DTA, nos últimos anos. O presente estudo analisou dados de surtos alimentares que permitiram identificar características importantes dessas síndromes como os principais agentes etiológicos, os alimentos mais comumente implicados e os fatores causais mais frequentes. Com base nesses dados, microrganismos como *Salmonella*, *S. aureus*, *B. cereus* e *E. coli* foram agentes bacterianos importantes nas DTA ocorridas em diferentes países, enquanto que *L. monocytogenes* parece ser a principal responsável pelos óbitos relacionados as DTA ocorridas nos EUA. Os alimentos mais

frequentemente envolvidos com as DTA foram os crus ou parcialmente cozidos, principalmente àqueles a base de ovos e produtos cárneos.

Os principais fatores causais foram a manipulação inadequada de alimentos, a exposição prolongada dos alimentos à temperatura ambiente, a refrigeração e a cocção inadequadas dos alimentos, enquanto que os restaurantes comerciais e as residências foram os locais de ocorrência de surtos mais frequentemente citados em diversos estudos.

Referências Bibliográficas

1. Centers for Disease Control and Prevention, - CDC - Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 1998-2002. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm#top>> Acesso em: 20 janeiro 2010.
2. Buzby JC, Roberts T. The Economics of Enteric Infections: Human Foodborne Disease Costs. *Gastroenterology*. 2009;136:1851–62.
3. Silva Jr EA. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação. 6 ed. São Paulo: Ed Varela. 2008.
4. Loir YL, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2003;2:63-76.
5. Greig JD, Ravel A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution, *International Journal of Food Microbiology*. 2009;130:77–87.
6. Forsythe SJ. *Microbiology of Safe Food*. 2 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010.
7. Carmo, GMI. et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. *Boletim eletrônico epidemiológico*, Brasília, ano 5, n.6, 2005. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/busca/buscar.cfm>> Acesso em: 01 agosto 2006.
8. Costalunga S, Tondo EC. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, 1997 a 1999. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2002;33:342-46.
9. Vaillant V, Valk H, Baron E, Ancelle T, Colin P, Delmas M-C. et al. Foodborne Infections in France. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2005;2:221-32.

10. Mürmann L, Santos MC, Longaray SM, Both JMC, Cardoso M. Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008;39:529-34.
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde- SVS. Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas Por Alimentos. 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf> Acesso em: 01 agosto 2010.
12. Tauxe RV. Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 2002;78:31–41.
13. Greig JD, Lee MB. Enteric outbreaks in long –term care facilities and recommendations for prevention: a review. *Epidemiol. Infect.* 2009;137:145–55.
14. Rodrigues MM, Bertin BMA, Assis L, Duarte EB, Avelar AMO, Paixão JTS. et al. Índícios de *Rotavirus* na etiologia de um surto de infecção de origem alimentar. *Ciência Tecnol Alim*. 2004;24:88-93.
15. Welker CAD, Both JMC, Longaray SM, Haas S, Soeiro MLT, Ramos RC. Análise microbiológica dos alimentos envolvido sem surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Bras. de Biociências*. 2010;8:44-8.
16. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31758>. Acesso em: 01 agosto 2010.
17. São Paulo, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE, Doenças Transmitidas por Alimentos, Estado de São Paulo. 1999-2008. Trabalho apresentado no III Seminário WHO Global Salmonella Surveillance, 29/09 a 03/10/2008, Brasília, DF, Brasil. 2008. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_vdtaa.htm> Acesso em: 10 março 2010.
18. RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual da Saúde. Divisão de Vigilância Sanitária. Relatórios Anuais de DTA. Porto Alegre, 2008.
19. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, et al. Food-borne diseases - The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:3–15.
20. Havelaar AH, Brul S, Jong A, Jonge R, Zwietering MH, Kuile BH. Future challenges to microbial food safety. *International Journal of Food Microbiology Intern Journal of Food Microbiology*. 2009;139:79-94.

21. Hughes C, Gillespie IA, O'Brien SJ. Foodborne transmission of infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–2003. *Food Control*. 2007;18:766–72.
22. Much P, Pichler J, Allerberger F. Foodborne infectious outbreaks, Austria 2005. *Wien Klin Wochenschr*. 2007;119:150–57.
23. Michino H, Otsuki K. Risk Factors in Causing Outbreaks of Food-Borne Illness Originating in Schoollunch Facilities in Japan. *J. Vet. Med. Sci*. 2000;62:557–60.
24. Centers for Disease Control and Prevention. – CDC - FoodNet 2007 Surveillance Report. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2009.
25. Wang S, Duan H, Zhang W, Li JW, Analysis of bacterial foodborne disease outbreaks in China between 1994 and 2005. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;51:8–13.
26. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2007. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apresentacao_dta.pdf> Acesso em: 01 agosto 2010.
27. Tauxe RV, Doyle MP, Kuchenmüller T, Schlundt J, Stein CE. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infection. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:16–28.
28. OPAS (PAHO) – Organização Pan-Americana da Saúde. Cholera in the Americas. *Epidemiological Bulletin of the Pan American Health Organization*. 1995. Disponível em: <http://www.paho.org/english/sha/epibul_95-98/be952choleraam.htm>. Acesso em: 01 agosto 2010.
29. Henao OL, Scallan E, Mahon B, Hoekstra RM. Methods for Monitoring Trends in the Incidence of Foodborne Diseases: Foodborne Diseases Active Surveillance Network 1996–2008. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010;00:00.
30. O'Brien SJ, Gillespie IA, Sivanesan MA, Elson R, Hughes C, Adak GK. Publication bias in foodborne outbreaks of infectious intestinal disease and its implications for evidence-based food policy. England and Wales 1992–2003. *Epidemiol. Infect.* 2006;134:667–74.
31. FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Salmonella Enteritidis* Outbreak in Shell Eggs. 2010. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/NewsEvents/WhatsNewinFood/ucm222684.htm>>. Acesso em: 19 agosto 2010.
32. Oliveira FA, Brandelli A, Tondo EC. Antimicrobial resistance in *Salmonella Enteritidis* from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. *The New Microbiologica*. 2006;29:49-5.

33. Daniels NA, Mackinnon L, Rowe SM, Bean NH, Griffin PM, Mead PS. Foodborne disease outbreaks in United States schools. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2002;21:623–28.
34. Michelin AF, Carmo LS, Carlos IZ. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigui, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* 2006;65:46-9.
35. Pigott DC. Enfermedades asociadas a los alimentos. *Rev Chil Infect.* 2008;25:395-99.
36. Jay JM. *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
37. Hedberg CW. et al. The use of clinical profiles in the investigation of foodborne outbreaks in restaurants: United States, 1982–1997. *Epidemiol. Infect.* 2008;136:65–72.
38. Pakalniskiene J, Falkenhorst G, Lisby M, Madsen SB, Olsen KEP, Nielsen EM. et al. A foodborne outbreak of enterotoxigenic *E. coli* and *Salmonella Anatum* infection after a high-school dinner in Denmark, November 2006, *Epidemiol. Infect.* 2009;137:396–401.
39. Nadvorny A, Figueiredo DMS, Schmidt V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. *Acta Scientiae Veterinariae.* 2004;32:47-51.

5.2 Artigo 2

5.2.1 Bacteriological and parasitological quality of the water used in public schools in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

Artigo submetido ao *Foodborne Pathogens and Disease*

Bacteriological and parasitological quality of the water used in public schools in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Ana Beatriz Almeida de Oliveira, Silvia Regina Pavan da Silva, Marilise Brittes Rott, Eduardo Cesar Tondo, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso.

Abstract

This paper had the purpose of evaluating the bacteriological and parasitological quality of the water provided in public schools supported by the National School Feeding Program (PNAE) in the municipality of Porto Alegre, Brazil. Water samples were collected from the kitchen taps and were analysed in order to detect the presence of total coliforms, *Escherichia coli*, aerobic heterotrophs, *Giardia* sp. cysts, *Cryptosporidium* spp. oocysts and impurities. *Escherichia coli* was found in 8.3% of schools, while total coliforms and heterotrophic microorganisms were found in 17% and 32% of schools, respectively. *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts were isolated in one and two schools, respectively. The presence of algae and invertebrates was observed in 68% of samples, with free-living nematodes and microcrustacea being found in 65% and 24.2% of schools, respectively. Therefore, school administrators should be aware that the good maintenance of water reservoirs and water-distribution pipes is indispensable for guaranteeing the safe feeding of students.

Key words: *E. coli*, Microbial Pathogens, Foodborne Illness, Food Safety

Introduction

A reduction by half of the world's population with no sustainable access to potable water comprises one of the UN Millennium Development Goals to be attained by 2015. It is estimated that around one billion people still have no access to potable water; these people constitute populations exposed to the risk of diarrhoeic disease (PNUD 2011).

It has been estimated that contaminated water causes 88% of the 1.5 million deaths registered each year by the World Health Organization as a result of diarrhoeic disease. Children from underdeveloped countries are the worst affected group (WHO 2010). In Brazil, there were 229,076 records of hospital admissions for gastroenteritis of presumed infectious origin in 2010 alone. Among those affected, half were children under 10 years of age (Brasil 2011). During the period between 1999 and 2008, water

was involved in 5.8% of food transmitted disease outbreaks that were notified by the Epidemiological Monitoring Center. Schools were the third most frequent locations of these outbreaks, indicating that children were one of the most affected groups. Among the causal agents in the notified outbreaks, Hepatitis A virus, Rotavirus, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. and *Cryptosporidium* spp. were the most prevalent (Brasil 2008).

Life expectancy at birth and schooling rates are some of the factors taken into consideration by the United Nations Organization in order to calculate the Human Development Index (HDI), which is used to compare countries in relation to the level of wellbeing of the population and is a key index for assessing the Millennium Development Goals (PNUD 2010). Brazil is 73rd in the HDI world ranking and has improved its index over the last few years, especially as a result of programs aimed at fighting school evasion and broadening access to food and basic sanitation. Among these initiatives is the National School Feeding Program (PNAE) that was created in 1955 and is currently managed by the National Education Development Fund (FNDE) from the Ministry of Education. In 2010, the PNAE supported 45 million students, representing over 25% of the Brazilian population, with the aim of supplying healthy food and contributing to student development and learning (Brasil 2010; Santos and others 2007).

The quality of water available in the schools directly relates to the safety of the food that is prepared, which can convey pathogens that cause a reduction in the growth and cognitive functions of students and thus have an influence on their performance at school (UNDP 2010). Therefore, the objective of this study was to analyse bacteriological potability parameters and the presence of parasites in samples of water used to prepare meals in public schools in the municipality of Porto Alegre.

Material and Methods

Location

The study was carried out in Porto Alegre, capital of the state of Rio Grande do Sul, latitude 30°01'58" South and longitude 51°13'48" West, a municipality with a population of 1,409,939 inhabitants (IBGE 2010). It is one of the cities with the best Human Development Index in Brazil (HDI 0.951), with 100% of the population having access to treated water and 56% with sewage collection. The municipality has 95

municipal schools and 250 state schools attended by a total of 245,350 students in basic and intermediate education.

Experimental outline

A transversal study was carried out in municipal and public state schools served by PNAE, with more than 100 students enrolled and located in the municipality of Porto Alegre. The sample unit was the school, where tap water used to prepare food was collected and analysed for the presence of total aerobic heterotrophs, total coliforms, *E. coli*, *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* spp.

The number of schools to be sampled (n=120) was calculated by taking into consideration a total of 282 public schools with over 100 students, a 95% confidence interval, a 50% expected prevalence of water samples with the presence of at least one of the aforementioned microorganisms and an acceptable error of 5% (EPI-INFO, Versão 3.5.1). In order to maintain the proportion of the two school strata (state and municipal) in the total sample, 100 state schools and 20 municipal schools were included in the study. Aleatory samples without replacement were drawn from each stratum from the public school registries that are available from the State Education Office and the Municipal Education Office. All schools were visited without prior notice, after authorization from the Education Offices. The study was submitted to and approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Rio Grande do Sul (Project no. 17265).

Sample collection

From each school, two 100 ml samples and one 10 l sample of water were collected from one single tap located in the kitchen. Before collecting the samples, the tap was sanitized and run for around 2 min. Samples (100 ml) were collected in sterile containers with sodium thiosulphate (final concentration of 0.008%) to neutralize the residual chlorine in the water. Immediately after collection, the samples were identified, stored in thermal bags and transported to the Preventive Veterinarian Laboratory (UFRGS). The samples collected underwent analysis for total coliforms, *Escherichia coli* and aerobic heterotrophs within 24 h of collection. Another sample (10 l) was collected in a plastic container that was identified and sent to the Parasitology

Laboratory (UFRGS) for the detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts.

Data collection

A questionnaire was used at each school sampled to gather data about: *i.* the origin of the water used (from public supply works or alternative); *ii.* the availability of a water report attesting to the potability of the water supply; *iii.* the presence of a water reservoir; *iv.* semestral cleaning of the reservoir; and *v.* the existence of a cover on the water tank. The questions were answered on the day of sampling, preferably by the school's director. The school was considered as having a reservoir in good condition when it could certify semestral cleaning of the reservoir by a company authorized by the Health Office and when it provided a complete cover that perfectly sealed the reservoir opening, as required by the legislation ruling food services (Brasil 2004a).

The schools' locations were georeferenced using a global positioning system (GPS), (Garmin - GPSMAP® 60CS, Taiwan). The coordinates collected were entered into a Microsoft Excel® spreadsheet and later marked using the Google *Earth*® program.

Detection of total coliforms and *E. coli*

Immediately upon arrival of the water sample at the laboratory, 100 ml of water was transferred to a borosilicate flask, to which one measurement of ReadyCult Coliforms 100® was added (Merck, Germany). The appearance of any greenish-blue colouration indicated the presence of total coliforms in the sample; a yellowish colour (unaltered from the original media) indicated the absence of total coliforms and *E. coli*. The presence of fluorescence when the flask was exposed to UV 365 nm light was interpreted as indicating the presence of *E. coli*. Positive tests were submitted to the Indole test for confirmation. From the test flask, a 4 ml volume was transferred to a sterile test tube and five drops of Kovac's reagent were added. The formation of a reddish or purple halo indicated a positive result and was interpreted as positive for *E. coli*. The final confirmation of the result was performed by subculturing on MacConkey Agar (Merck, Germany). Following incubation (37 °C, 24 h), suspected colonies were confirmed through biochemical tests (Brasil 2006b).

Enumeration of aerobic heterotrophs

For enumeration of aerobic heterotrophic bacteria was adopted methodology described by EPA (2000). Sample aliquots (0.1 ml) were streaked onto Tryptone Soya Agar (TSA, Merck, Germany) in duplicate, and incubated for 24 h at 36 ± 1 °C (). The results are expressed in colony-forming units per millilitre of water (CFU/ml).

Parasitological analysis

Samples (10 l) were submitted to filtering under negative pressure (4 l/min) through cellulose acetate membranes (47 mm diameter, 3 µm pore, Millipore, Brazil) as previously described (Farias and others 2002; Gamba and others 2000). Saturated membranes were replaced and the number of membranes required to filter the total volume was recorded. After filtering, the membranes were removed, rinsed with 2 ml of 0.2% Tween 80 and scraped with a plastic spatula. The eluted material was collected with a Pasteur pipette and centrifuged (2500 rpm, 15 min). Slides from the sediment (25 µl) were stained using the modified Ziehl-Neelsen technique in order to observe *Cryptosporidium* spp. (De Carli 1994). The remaining material was centrifuged again (3000 rpm, 10 min) and the sediment was used for the microscopic detection of *Giardia* spp., algae and invertebrates (Franco and others 2001). Microscopic analyses were performed using an optical microscope (Nikon, Japan). All of the analyses were performed in duplicate.

Statistical analysis

The presence of microorganisms was represented by absolute and relative frequencies. The mean number of membranes required for filtering the sample was considered for analyses. In order to compare the mean number of filter membranes used between the schools with the presence of free-living helminth larvae, the Mann-Whitney test was used. The level of significance adopted was 5% ($p \leq 0.05$) and the analyses were performed with the SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) program, version 17.0.

Results

All schools sampled received treated water from the municipality public supply service. Of the 120 schools studied, five (four state and one municipal) did not have a water reservoir and were supplied by direct mains. The other schools (115) had reservoirs; however, only eight (6.9%) – six municipal and two state schools – maintained them within the norms established by legislation (RDC 216/2004) (Brasil 2004a) which requires the sanitation of school reservoirs every six months.

Escherichia coli was detected in 8.3% (CI95%: 4.3-14.4%) of the schools, meaning that they were not potable according to current legislation (Brasil 2004b). The five schools that received water directly from the mains supply and the eight schools that complied with the legislation for water reservoir sanitation did not present any positive water samples for *E. coli*. Total coliforms were found in 17% of the samples (CI 95%:10.8-24.1%). Heterotrophs were found in water samples from 39 schools (32%), but only four presented counts above 500 CFU/ml. *Giardia* sp. cysts were found in one state school and *Cryptosporidium* spp. oocysts in two schools, one state and one municipal. The municipal school that had a positive sample for *Cryptosporidium* spp. belonged to the group of schools that had reservoirs in compliance with the legislation (Table 1). The schools with positive results for *E. coli*, *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* spp. were not concentrated within one geographical region of the municipality of Porto Alegre (Figure 1).

Analysis of the material found on the filter membranes revealed that in 81 schools (68%), 65 state and 16 municipal, algae and invertebrates such as free-living helminth larvae and adults, insect fragments and microcrustacea, among others, were present. Out of these, the water in seven schools was unsuitable for consumption due to the presence of *E. coli*, although the others presented suitable potability standards according to the legislation, including the group of six schools that had reservoirs in conditions that met with the legislation (Table 1).

The number of membranes needed to filter the water varied between one and six units according to saturation levels. Free-living nematode larvae were found in 65% and microcrustaceans in 24.2%, as well as lower percentages of insect fragments, some species of rotifers, algae, free-living protozoa, and inorganic material such as oxidized iron residues, sand and earth. There was no statistical difference between the number of

membranes used to filter the samples and the presence or absence of the abovementioned contaminants ($p=0.117$). Out of all of the filtered samples, 110 (92%) used up to two membranes, which is an indication that the organic and inorganic matter detected in the samples was at a low concentration.

Discussion

According to the analyses carried out, 10 schools (8.3%) in the municipality of Porto Alegre were using water unsuitable for consumption at the time the samples were collected. In Brazil, water potability parameters are determined by Portaria 518/2004, which states that *E. coli* must be absent in a 100 ml water sample (Brasil 2004b). All of the schools sampled were connected to the mains supply and received treated water from the Municipal Water and Sewage Department (DMAE). The reports published by the DMAE for the sample collection period certified that the treatment system was operating in accordance with the standards required by legislation, showing that the water distributed was potable (POA 2010). Schools in which the water did not meet potability standards were not located within the same regions; likewise, most of schools that presented suitable or unsuitable water for consumption were located just a few meters away from each other (Figure 1).

Thus, contamination of the water probably occurred due to lack of reservoir cleaning and disinfection and poor maintenance of the water distribution pipe. In that sense, 93.1% of the schools did not have certified biannual sanitation, which is mandatory under Brazilian legislation for food services (Brasil 2004a). While 9.3% of the schools in this group were found to have water outside of the potability limits, all schools that received water directly from the mains and those with reservoirs that complied with legislation only had water samples with an absence of *E. coli*. Even so, it was observed that water potability in the schools from Porto Alegre was considerably better when compared to the few reports that exist elsewhere in Brazil.

Cardoso et al, (2007) carried out a similar study in schools of the public network in Salvador, Bahia, and found that in 32% and 22% of state and municipal schools, respectively, thermotolerant coliforms were present in the water. The authors also observed a lack of periodic cleaning of the water reservoirs in 51% of the schools, as well as faulty structures in 21% of the reservoirs. (Cardoso and others 2007). Even so,

the non-conformities in water storage were considered to be an important contributory factor to the low quality of water used in the schools. In another study carried out in food services in Recife, Pernambuco, 42.5% of the establishments presented water samples with thermotolerant coliforms (Siqueira and others 2010).

Protozoa such as *Cryptosporidium* spp. and *Giardia lamblia* are a matter of concern regarding water quality in several countries (Bouzid and others 2008; Cummins and others 2010; Huang and White 2006; Reynolds and others 2008). The (oo)cysts of those microorganisms are known for their persistence both in the ground and water, as well as for their resistance to disinfectants, particularly chlorine. Such characteristics facilitate the proliferation of those protozoa in the environment, treated water, food and recreational and coastal areas (Bouzid and others 2008; Rose and others 2002; Smith and others 2007).

Brazilian legislation recommends, but does not require, testing for *Giardia* sp. cyst and *Cryptosporidium* spp. oocyst levels as limits for the potability of water (Brasil 2004b). However, the presence of cysts and oocysts of these protozoa in three schools shows that the water supplied to these schools could represent a hazard for the children exposed. In studies carried out to assess the efficacy of different stages of water treatment, Westrell et al. (2003) pointed out that the majority of diseases transmitted through water are linked to pathogens that survive routine water treatment operations (Westrell and others 2003). Cummins et al. (2010) suggested that failures in conventional treatment processes are the main contributory factor towards the risk of cryptosporidiosis in humans. The present paper shows that one of the samples that were positive for *Cryptosporidium* was obtained in a school with a potable water supply that was stored in a suitable reservoir, which indicates that the failure in water quality may have occurred in the water treatment system. Besides this, the schools with positive samples for *Giardia* and *Cryptosporidium* were distributed across a broad region in the municipality, indicating that these were not isolated observations. Therefore, analysis for total and thermotolerant coliforms alone does not seem to be enough to determine water potability limits.

Regarding the material retained by the filter membranes, which was mainly comprised of higher organisms, it should be noted that these types of organisms can be present in the water. However, some higher organisms proliferate in treatment plant

filters and colonize the water distribution network, and they can also carry pathogens that cause waterborne diseases (Bichai and others 2008).

In the present study, nematodes were the most frequently isolated higher organism. Bichai et al. (2008) reported that, in addition to survival, nematodes could protect the bacteria and protozoa from the water treatment and disinfection processes. Besides, microcrustacea and rotifers were also observed. The form of pathogen transmission by zooplankton has not been well elucidated as yet (Bichai and others 2008; Fayer and others 2000; Greub and Raoult 2004). Microcrustaceans may act on the natural control of protozoa in surface waters, but they are also suspected to carry and protect microorganisms (Connelly and others 2007). In the present study, the majority of schools showed the presence of one or more of these higher microorganisms in the water samples regardless of the reservoir conditions or water potability, highlighting the importance of carrying out investigations into the presence and significance of these higher organisms, especially in treated water.

In the majority of the schools studied, the water served to students and used to prepare food was within the quality standards established by legislation, which are consistent with the level of basic sanitation and HDI in the municipality of Porto Alegre. However, problems were detected in compliance with the legislation relative to water reservoir maintenance, which indicates that some schools do not supply quality water to their students. Where basic sanitation is concerned, these results indicate that even in more developed municipalities, children and other school community members could be exposed to the hazard of infection by waterborne organisms. School administrators should be aware that the maintenance of water reservoirs and water-distribution pipes is indispensable for guaranteeing the safe feeding of students.

References

- Bichai F., Payment P. and Barbeau B. 2008. Protection of waterborne pathogens by higher organisms in drinking water: a review. *Can J Microbiol* 54:509-24.
- Bouزيد M., Steverding D. and Tyler K.M. 2008. Detection and surveillance of waterborne protozoan parasites. *Curr Opin Biotechnol* 19:302-6.
- Brasil. 2004a. RDC nº216, de 15 de setembro de 2004. In *Dispõe sobre Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação*. (Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 set. Available: <http://www.anvisa.gov.br>. Accessed: November 18, 2006.

- Brasil. 2004b. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. In *Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências*. (Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 mar.
- Brasil. 2006b. *Inspeção sanitária em abastecimento de água (Série A. Normas e Manuais Técnicos)*. Ministério da Saúde, Brasília.
- Brasil. 2008. Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. (Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde. Available: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/surtos_agua.pdf. Accessed: October 15, 2009.
- Brasil. 2010. Alimentação Escolar. (Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - Ministério da Educação. Available: <http://www.fnde.gov.br/index.php/programasalimentacao-escolar>. Accessed: July 11, 2010.
- Brasil. 2011. Informações de saúde DATASUS, ed. (Ministério da Saúde. Available: <http://www.datasus.gov.br>. Accessed: January 22, 2011.
- Cardoso R.C.V., Almeida R.C.C., Guimarães A.G. et al., . 2007. Qualidade da água utilizada em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), em Salvador-BA. *Rev Inst Adolfo Lutz* 66:287-91.
- Connelly S.J., Wolyniak E.A., Dieter K.L., Williamson C.E. and Jellison K.L. 2007. Impact of zooplankton grazing on the excystation, viability, and infectivity of the protozoan pathogens *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia*. *Appl Environ Microbiol* 73:7277-82.
- Cummins E., Kennedy R. and Cormican M. 2010. Quantitative risk assessment of *Cryptosporidium* in tap water in Ireland. *Sci Total Environ* 408:740-53.
- De Carli G.A. 1994. *Diagnóstico laboratorial das Parasitoses Humanas*, 1 edition. Medsi, Rio de Janeiro.
- EPA 2000. Environmental Protection Agency. Analytical Methods Approved for Drinking Water Compliance. USA;
- Farias E.W.C., Gamba R.C. and Pellizari V.H. 2002. Detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in raw sewage and creek water in the city of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:41-3.
- Fayer R., Morgan U. and Upton S.J. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *Int J Parasitol* 30:1305-22.
- Franco R.M.B., Rocha-Eberhardt R. and Cantusio Neto R. 2001. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.* 43:109-11.
- Gamba R.C., Ciapina E.M.P., Espíndola R.S., Pacheco A. and Pellizari V.H. 2000. Detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in groundwater for human consumption in Itaquaquecetuba City, S. Paulo-Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 31:151-3.
- Greub G. and Raoult D. 2004. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin Microbiol Rev* 17:413-33.
- Huang D.B. and White A.C. 2006. An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Gastroenterol Clin North Am* 35:291-314, viii.
- IBGE. 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (Ministério do Planejamento, Orçamento e Estatística. Available: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao>. Accessed: January 20, 2011.

- PNUD. 2010. Desenvolvimento Humano e IDH. Atlas do Desenvolvimento Humano. Tabelas de ranking do IDH-M 1999-2000/2003 (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Available: <http://www.pnud.org.br/publicacoes/atlas>. Accessed: October 15, 2010.
- PNUD. 2011. Objetivos de Desenvolvimento do Milênio. (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Available: <http://www.pnud.org.br>. Accessed: March 15, 2011.
- POA. 2010. Qualidade da água distribuída pelo DMAE mês a mês. (DMAE - Departamento Municipal de Água e Esgotos Porto Alegre. Available: <http://www.portoalegre.rs.gov.br/dmae>. Accessed: December 15, 2010.
- Reynolds K.A., Mena K.D. and Gerba C.P. 2008. Risk of waterborne illness via drinking water in the United States. *Rev Environ Contam Toxicol* 192:117-58.
- Rose J.B., Huffman D.E. and Gennaccaro A. 2002. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. *FEMS Microbiol Rev* 26:113-23.
- Santos L.M.P.S., Santos S.M.C., Santana L.A.A. et al., . 2007. Avaliação de políticas públicas de segurança e combate à fome no período 1995-2002. 4 – Programa Nacional de Alimentação Escolar. *Cad.Saúde Pública* 23:2681-93.
- Siqueira L.P., Shinohara N.K.S., Lima R.M.T., Paiva J.E., Lima Filho J.L. and Carvalho I.T. 2010. Avaliação microbiológica da água de consumo empregada em unidades de alimentação. *Ciência & Saúde Coletiva* 15:63-6.
- Smith H.V., Caccio S.M., Cook N., Nichols R.A. and Tait A. 2007. Cryptosporidium and Giardia as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol* 149:29-40.
- UNDP. 2010. Programme Millennium Development Goals. 2010. Environment and Energy. Water Governance. Water Supply and Sanitation. (United Nations Development. Available: <http://www.undp.org/water/priorityareas/supply.html>. Accessed: October 18, 2010.
- Westrell T., Bergstedt O., Stenstrom T.A. and Ashbolt N.J. 2003. A theoretical approach to assess microbial risks due to failures in drinking water systems. *Int J Environ Health Res* 13:181-97.
- WHO. 2010. Progress on Sanitation and Drinking-water: 2010 Update. (World Health Organization, Genebra, Suíça. Available: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2005/9241592330.pdf>. Accessed: December 15, 2010.

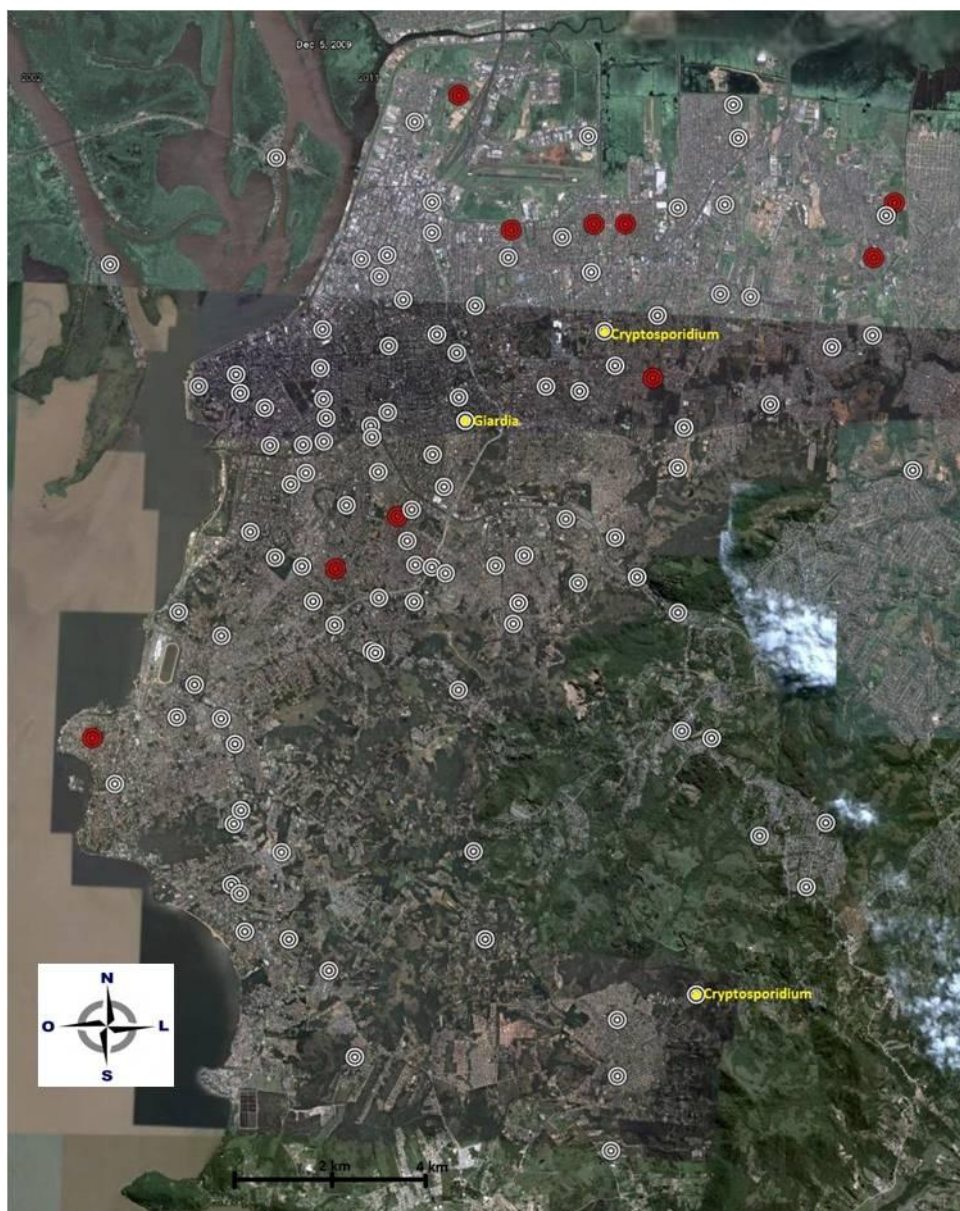


Figure 1: Location of schools sampled on the Porto Alegre city map. White spots represent schools with potable water; Red spots represent schools with water unsuitable for consumption. The schools with the presence of *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* spp. are shown by yellow spots.

TABLE 1

THE DISTRIBUTION OF POTABILITY RESULTS AND THE PRESENCE OF AEROBIC HETEROTROPHS (>500 CFU/ML), *CRYPTOSPORIDIUM*, *GIARDIA*, AND ALGAE AND INVERTEBRATES IN THE WATER SAMPLES ANALYSED ACCORDING TO THE WATER RESERVOIR RATING IN SCHOOLS IN PORTO ALEGRE, BRAZIL.

Reservoir	Total	Potability		Heterotrophs	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	Algae and invertebrates
		Present	Absent				
Absent	5	5 (100%)	0	0	0	0	5 (100%)
Suitable	8	8 (100%)	0	0	1 (12.5%)	0	6 (75%)
Unsuitable	107	97 (90.7%)	10 (9.3%)	4 (3.7%)	1 (0.9%)	1 (0.9%)	70 (65.4%)
Total	120	110 (91.7%)	10 (8.3%)	4 (3.3%)	2 (1.6%)	1 (0.8%)	81 (67.5%)

5.3 Artigo 3

5.3.1 Avaliação das Boas Práticas de preparo de alimentos e da condição higiênico-sanitária de superfícies de equipamentos e utensílios em escolas públicas do município de Porto Alegre, Brasil.

**Avaliação das Boas Práticas de preparo de alimentos e da condição
higiênico-sanitária de superfícies de equipamentos e utensílios em
escolas públicas do município de Porto Alegre, Brasil**

Ana Beatriz Almeida de Oliveira, Elke Stedefeldt, Eduardo Cesar Tondo, Diogo
Thimóteo da Cunha, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

Resumo

A alimentação dentro de padrões higiênico-sanitários é uma das condições essenciais para a promoção da saúde dos escolares. O objetivo do presente estudo foi avaliar e classificar as condições higiênico-sanitárias do preparo de alimentos em escolas públicas de Porto Alegre, através da análise microbiológica e da presença de matéria orgânica em superfícies que entram em contato com os alimentos e verificação de Boas Práticas. Foram avaliadas 120 escolas atendidas pelo PNAE, onde foi aplicada Lista de Verificação de BP elaborada para o ambiente escolar e foram colhidos suabes de superfície de equipamentos (refrigerador, liquidificador e bancada) e utensílios (pratos e placa de corte). O material colhido nos suabes foram analisados quanto à quantidade de matéria orgânica por meio da técnica ATP bioluminescência e quanto aos número de mesófilos heterotróficos. Os resultados da avaliação de BP demonstraram que 33%, 64% e 3% das escolas estavam em situação de risco sanitário alto, regular e baixo respectivamente. Os blocos com maior índice de inadequação eram relacionados com as edificações, processos e higienização. A mediana de microrganismos mesófilos heterotróficos encontrada foi: bancada:

27,3 UFC/cm²; placa de corte: 15 UFC/cm²; liquidificador: 14,5 UFC/cm²; pratos: 2 UFC/cm²; refrigerador: 1 UFC/cm². A mediana das medições das superfícies analisadas através de ATP bioluminescência foi inferior a 40URL/100 cm² para todos os equipamentos e utensílios com exceção da superfície das bancadas que apresentou mediana de 52,5URL/100 cm². As superfícies de bancadas e placas de corte apresentaram as maiores frequências de inadequação em ambos os parâmetros avaliados, demonstrando que há problemas de higienização. Conclui-se que há necessidade de investimento na melhoria das escolas e de capacitação de manipuladores de alimentos.

Palavras – chave: Boas Práticas, ATP bioluminescência, mesófilos heterotróficos e inocuidades dos alimentos

Introdução

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) é o maior programa de alimentação do Brasil. O orçamento do programa para 2011 é de R\$ 3,1 bilhões, para beneficiar 45,6 milhões de estudantes da educação básica e de jovens e adultos em escolas públicas do país (Brasil, 2010), sendo a inocuidade dos alimentos uma de suas prioridades. A alimentação dentro de padrões higiênicos satisfatórios é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde dos escolares. Especialmente para as escolas, o Ministério da Educação (MEC) e o Ministério da Saúde (MS) instituíram diretrizes para a promoção da alimentação saudável, incluindo o dever da implementação de ações voltadas às Boas Práticas (BP) de

manipulação de alimentos, isto é, conhecer, fomentar e criar condições para a adequação às BP dos locais de produção e fornecimento de refeições (Brasil, 2006a). No âmbito nacional, a Resolução nº 216, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece os procedimentos de BP para serviços de alimentação, incluindo as escolas (Brasil, 2004).

Métodos simples e eficazes para avaliar as condições higiênico-sanitárias das cozinhas escolares são importantes, permitindo a identificação dos pontos críticos para a transmissão de microrganismos patogênicos (OPAS, 2006). Métodos indiretos como as listas de verificação de BP têm sido propostas e adotadas como ferramenta para avaliação das condições de processamento dos alimentos (Santana et al., 2009)

No Rio Grande do Sul, a Portaria nº 78/2009 (Rio Grande do Sul, 2009), da Secretaria Estadual de Saúde, foi elaborada com base na RDC nº 216/2004 e compreende uma lista de verificação de BP para serviços de alimentação, porém os critérios avaliados incluem itens não pertinentes ao ambiente escolar. A Resolução nº 275/2002, da ANVISA, que contempla uma lista de verificação de Boas Práticas de Fabricação para indústria de alimentos foi adotada para avaliar as condições higiênico-sanitárias de ambientes escolares (Farche et al., 2007; São José & Sant'ana, 2008), porém também não objetiva a verificação de processos típicos do preparo de alimentação na escola. Campos et al. (2009) elaboraram uma lista de verificação para manipuladores de alimentos nas escolas, baseado no Programa Alimentos Seguros (PAS). Por meio da sua aplicação em 27 escolas da cidade de Natal (RN), demonstrou-se que as condições e práticas de higiene dos manipuladores

estavam inadequadas. Todos estes estudos utilizaram listas com itens e critérios distintos, demonstrando a falta de um instrumento de avaliação específico das condições higiênico-sanitárias para o ambiente escolar.

Entre os métodos diretos para avaliar a higiene dos estabelecimentos que preparam alimentos, encontra-se a determinação da presença residual de matéria orgânica ou microrganismos após a sanificação de superfícies em contato com os alimentos (Andrade 2008). O método da bioluminescência fornece uma estimativa da higienização da superfície em tempo real, incluindo a presença de detritos orgânicos e, conseqüentemente, o risco da presença de microrganismos. A capacidade de fornecer resultados rápidos permite que a ATP bioluminescência possa ser usada como monitoramento de equipamentos e utensílios, ao contrário das análises microbiológicas que demandam períodos maiores para obtenção dos resultados (Aycicek et al., 2006). A presença de microrganismos em superfícies que apresentam resíduos propicia o crescimento microbiano e a formação de biofilmes. A partir desses, pode ocorrer a liberação de microrganismos, que contaminam os alimentos (Andrade, 2008; Gelli et al., 2005; Pires et al., 2005; Forsythe, 2010).

Não existem relatos de estudos realizados em escolas brasileiras referentes à avaliação das superfícies que entram em contato com alimentos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar as condições higiênico-sanitárias das unidades de alimentação e nutrição das escolas públicas de Porto Alegre por meio da aplicação de lista de verificação de BP e verificação da higiene de superfícies em contato com os alimentos, utilizando a bioluminescência e a enumeração de heterotróficos mesófilos.

Material e Métodos

Local

O estudo foi conduzido na cidade de Porto Alegre, capital do estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, no período de outubro de 2008 a junho de 2009. Nesta cidade de aproximadamente 1,4 milhões (IBGE, 2010) de habitantes, existiam 345 escolas gerenciadas pelo governo estadual e municipal, atendendo um total de 245.350 estudantes na educação fundamental e ensino médio.

Delineamento do estudo

Foi conduzido um estudo transversal em escolas públicas de Porto Alegre/RS, atendidas pelo PNAE, em que estavam matriculados no mínimo 100 alunos. Dentre as escolas que obedeciam esse critério (n=282), foi calculado o número de escolas a serem avaliadas (n=120), a partir de uma prevalência esperada de 50% de amostras de superfície com presença de heterotróficos mesófilos acima de 50 Unidades Formadoras de Colônia (UFC/cm), um intervalo de confiança de 95% e uma precisão absoluta de 5% (EPI-INFO, 2009). As unidades avaliadas foram sorteadas a partir dos cadastros de escolas públicas disponíveis na Secretaria Estadual de Educação e na Secretaria

Municipal de Educação. Todas as escolas foram visitadas, sem aviso prévio, após autorização das Secretarias de Educação. Foi requerido o consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2) de todos os entrevistados. O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Projeto nº 17265).

Aplicação da Lista de Verificação

Cada escola foi avaliada por meio de uma lista de verificação das BP específico para avaliação do ambiente escolar. As perguntas eram respondidas, no dia da visita, pelos responsáveis pela manipulação dos alimentos.

A lista de verificação foi elaborada e validada pelo Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), com base nas seguintes legislações brasileiras: RDC 216/2004 (Brasil, 2004), Resolução SS-196/1998 (São Paulo, 1998), Portaria CVS 06/1999 São Paulo, 1999), Portaria 542/2006 (Rio Grande do Sul, 2006) e listas de verificação utilizadas por nutricionistas de secretarias de educação de municípios brasileiros. Sua elaboração contou com a participação de técnicos e especialistas da área de segurança de alimentos. A lista de verificação elaborada foi testada em 76 escolas do município de Santos (São Paulo, Brasil) e comparada a outras listas de verificação de referência no país para diversos serviços de alimentação. Também foi avaliada por nutricionistas da alimentação escolar do Brasil indicando suas percepções sob as seguintes dimensões: contemplação e inovação, benefício, adequação, utilidade, acessibilidade, igualdade e transferência (Stedefeld, Comunicação Pessoal).

A lista de verificação é composta por 99 questões distribuídas em seis blocos temáticos (Tabela 1). A cada uma das questões da lista de verificação são atribuídas notas que variam de zero a oito, conforme o grau de risco e importância para a segurança dos alimentos atribuído durante a elaboração da lista de verificação. Todas as respostas assinaladas na alternativa “não”, caracterizando a não conformidade do item às Boas Práticas, recebem o escore zero. Em relação às alternativas assinaladas como “sim”, os escores são atribuídos de acordo com as características da questão: o escore 8 (oito) é atribuído para os itens que representam condições ou situações que evitam a multiplicação de microrganismos; 4 (quatro) para os que evitam a sobrevivência de microrganismos; 2 (dois) para os que evitam a contaminação cruzada por contato direto com o alimento; e 1 (um) para os que evitam a contaminação cruzada, sem contato direto com o alimento. Além disso, para cada um dos blocos está estipulado um peso (k, igual a 10, 15, 25 ou 30) de acordo com o grau de risco e importância para a segurança dos alimentos (Resolução SS-196/1998, São Paulo, 1998).

Para o cálculo dos pontos obtidos em cada bloco da lista de verificação foi aplicada a fórmula:

$$PB_x = (\sum x / P_x - \sum NA_x) k_x$$

Onde: PB_x: Pontuação alcançada no bloco X (1 a 6)

$\sum x$: Somatório das notas obtidas nos itens do bloco X

P_x: Pontuação máxima possível no bloco X

$\sum NA_x$: Somatório das notas das questões não aplicáveis no bloco

k_x: Peso atribuído ao bloco X

Após o cálculo de pontos obtidos em cada um dos blocos (PB), os resultados obtidos foram somados. Cada escola obteve uma pontuação final e foi classificada por bloco ou por pontuação total em níveis de risco: Muito alto (0-25 pontos); Alto (26-50); Regular (51-75); Baixo (76-90); Muito Baixo (91-100).

Tabela 1. Tópicos e número de questões nos seis blocos temáticos que constituíram a Lista de Verificação das Boas Práticas aplicada em 120 escolas públicas de Porto Alegre.

BLOCOS DA LISTA DE VERIFICAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS	Nº questões por assunto
BLOCO 1. EDIFICAÇÕES Pontuação Máxima= 75; (k=10)	32 questões
Localização da Unidade de Alimentação e Nutrição	1
Piso da área de produção	3
Paredes e divisórias da área de produção	1
Forros e tetos da área de produção	1
Portas e janelas da área de produção	5
Iluminação da área de produção	2
Ventilação da área de produção	1
Sanitários e vestiários	5
Lavatórios exclusivos para higiene das mãos	3
Áreas de armazenamento em temperatura ambiente	5
Área de consumo/refeitório/salão de refeições	4
Área de depósito e higienização de material de limpeza	1
BLOCO 2. EQUIPAMENTOS DE TEMPERATURA CONTROLADA Pontuação Máxima = 68; (k=15)	9 questões
Áreas de armazenamento em temperatura controlada	9
BLOCO 3. MANIPULADORES Pontuação Máxima = 26; (k=25)	8 questões
Uso de uniforme, higiene pessoal, capacitação em segurança dos alimentos, exames médicos	8
BLOCO 4. FORNECEDORES Pontuação Máxima = 22; (k=10)	4 questões
Transporte de matéria prima data de validade, devolução de produtos não conformes	4
BLOCO 5. PROCESSOS E PROCEDIMENTOS Pontuação Máxima = 146; (k=30)	28 questões
Higiene das mãos	1
Recebimento de matéria prima	1
Armazenamento de matéria prima (embalagens fechadas)	4
Armazenamento pós-manipulação	6
Procedimentos na preparação de alimentos	2
Processo de descongelamento	1

Processo de dessalgue	1
Procedimentos para cocção e reaquecimento	1
Procedimentos para distribuição	1
Procedimentos para utilização de sobras	1
Cuidados com ovos	2
Transporte de alimentos prontos	7
BLOCO 6. HIGIENIZAÇÃO AMBIENTAL Pontuação Máxima = 60; (k=10)	16 questões
Lixo/Esgotamento Sanitário	2
Higiene das instalações	7
Higiene de utensílios/equipamentos/outros materiais	5
Controle de pragas	2
TOTAL DAS QUESTÕES DA LISTA DE VERIFICAÇÃO DE BP	99 questões

Coleta de suabes de superfícies

As coletas foram realizadas na superfície de cinco equipamentos ou utensílios disponíveis no ambiente onde era preparada a alimentação dos alunos: parte interna do liquidificador e do refrigerador; bancada onde os alimentos eram manipulados; placas de corte; pratos onde as refeições eram servidas aos alunos. Estes equipamentos e utensílios foram escolhidos por estarem presentes em praticamente todas as escolas e serem utilizados diariamente. Antes de proceder à coleta era verificado se os equipamentos estavam prontos para serem utilizados. Caso negativo era solicitado aos manipuladores que higienizassem a superfície conforme o procedimento de rotina.

De cada superfície, foram coletadas duas amostras: uma para a enumeração de mesófilos heterotróficos e outra para a avaliação quantitativa de matéria orgânica através da ATP bioluminescência.

Para mesófilos heterotróficos, as amostras foram coletadas em cada superfície por meio de suabes, previamente umedecido em água peptonada 0,1%, friccionadas numa área de 100cm² (10cmx10cm) delimitada por um

molde descartável estéril. Após a coleta, os suabes foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água peptonada 0,1%. Para o teste de ATP bioluminescência foi amostrada uma área adjacente semelhante, utilizando um suabe apropriado para a mensuração no equipamento (ATP *Luminometer*, Hygiena, System SURE II®, Camarillo, US) para cada equipamento ou utensílio.

Enumeração de mesófilos heterotróficos

Após a coleta, os tubos foram transportados ao laboratório e as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} preparadas em água peptonada 0,1%. Alíquotas das diluições foram semeadas em duplicata em Ágar Padrão de Contagem (PCA, Merck, Darmstadt, Germany), e incubadas a 37°C por 24 – 48 h. Após esse período, foram selecionadas as placas que apresentavam de 20 – 200 colônias. A contagem foi determinada multiplicando o número médio de colônias das duas placas pelo inverso da diluição, dividido por 100 e expresso em Unidades Formadoras de Colônias por centímetro quadrado (UFC/cm²).

Os resultados obtidos na enumeração de mesófilos heterotróficos foram classificados conforme critério proposto por Silva Jr. (2008) que considera como com nível de higiene satisfatório as superfícies de equipamentos e utensílios que, após higienização, apresentarem $\leq 50\text{UFC}/\text{cm}^2$ de mesófilos heterotróficos e como insatisfatório aqueles $>50\text{UFC}/\text{cm}^2$.

Quantificação da ATP Bioluminescência

A matéria orgânica presente nas superfícies foi quantificada por meio do equipamento ATP Luminometer. Após a coleta, o suabe foi introduzido numa cubeta contendo o complexo enzimático luciferina-luciferase. Na cubeta ocorria a reação entre o ATP e o complexo enzimático liberando luz, cuja quantidade foi medida pelo equipamento. Os resultados foram expressos em Unidades Relativas de Luz (URL). Superfícies com resultado $<30 \text{ URL}/100\text{cm}^2$ foram consideradas como aceitáveis (Bartz et al., 2010).

Análise dos dados

Os resultados foram tabulados em planilhas do Microsoft Office Excel 2007, através de digitação dupla, e analisados quanto às frequências absolutas e relativas. As medianas do valor de cada equipamento ou utensílio também foram utilizados para a descrição das variáveis. A comparação entre os resultados obtidos nos equipamentos foi realizada através do Teste de Friedman. Para complementar essa análise foi aplicado o Teste de Wilcoxon. Para avaliar a associação entre os valores do luminômetro com a contagem de mesófilos heterotróficos foi utilizado o Coeficiente de Spearman. Na comparação em cada escola dos valores encontrados acima dos parâmetros dos equipamentos ou utensílios tanto para a contagem de mesófilos heterotróficos como para o luminômetro foi utilizado o Teste qui-quadrado de McNemar. As análises foram realizadas no programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 17.0, e o nível de significância adotado foi $P < 0,05$.

Resultados

Entre as cento e vinte escolas avaliadas por meio da lista de verificação de BP elaborada para aplicação em cozinhas escolares, 40 escolas (33%) obtiveram pontuação entre 36 e 50, sendo classificadas como em situação de risco sanitário alto, 76 (64%) apresentavam situação de risco sanitário regular (51 a 75 pontos) e quatro (3%) apresentavam situação de risco sanitário baixo (77 a 81 pontos). A distribuição de pontos obtidos nos blocos temáticos encontra-se demonstrada na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição de 120 escolas públicas do município de Porto Alegre de acordo com a classificação de risco sanitário em seis blocos temáticos da Lista de Verificação de Boas Práticas aplicada.

Bloco	Risco sanitário				
	Muito baixo	Baixo	Regular	Alto	Muito alto
Edificações	0	0	28 (23%)	88 (74%)	4 (3%)
Equipamentos de temperatura controlada	4 (3%)	14 (12%)	34 (28%)	49 (41%)	19 (16%)
Manipuladores	3 (3%)	13 (11%)	53 (44%)	47 (39%)	4 (3%)
Fornecedores	113 (94%)	0	4 (3%)	0	3 (3%)
Processos	1 (1%)	0	57 (47%)	62 (52%)	0
Higienização ambiental	0	6 (5%)	60 (50%)	50 (42%)	4 (3%)

A avaliação conduzida demonstrou que os blocos Edificações e Equipamentos de Temperatura Controlada foram os que apresentaram maior frequência de escolas classificadas em situação de risco sanitário elevado e muito elevado. Nos itens referentes às edificações, 77% das escolas foram classificadas nos níveis mais elevados de risco, sendo os principais problemas identificados relacionados à ausência de proteção das luminárias da cozinha, ausência de tela nas janelas e às condições inadequadas ou ausência de

sanitários exclusivos para os manipuladores de alimentos. No bloco de questões que avaliaram os equipamentos de temperatura controlada, 57% das escolas foram classificadas como apresentando risco elevado e muito elevado. Os principais problemas identificados nesse bloco foram relativos à falta de termômetro para aferir a temperatura dos alimentos, refrigeradores com temperatura inadequada e acúmulo de gelo nos congeladores.

Nos blocos Manipuladores, Processos e Higienização Ambiental, respectivamente, 42%, 52% e 45% das escolas foram classificadas nos níveis de risco mais elevados. As principais não-conformidades encontradas foram: a ausência de exames médicos periódicos; o uso de adornos pelos manipuladores durante a preparação de alimentos; armazenamento de alimentos em temperatura de risco e ausência de identificação dos alimentos mantidos sob refrigeração. Nesses blocos, observou-se elevado índice de problemas relativos à higienização de mãos, pois em 99% das escolas os funcionários não seguiam procedimento adequado, nem utilizavam produtos recomendados para lavagem e desinfecção. Ainda no item higienização, 86% das escolas higienizavam inadequadamente os pisos das áreas de manipulação e processamento, e 98% não realizavam a desinfecção correta em utensílios e equipamentos.

Apenas no bloco relativo aos fornecedores, as escolas avaliadas foram classificadas quase na totalidade (94%) no nível de risco sanitário muito baixo.

Na avaliação da contagem mesófilos heterotróficos das superfícies, amostras colhidas em três escolas foram danificadas durante o transporte até o

laboratório e não foram processadas. Elevada variação no número de mesófilos heterotróficos foi observada em todos os equipamentos e utensílios avaliados, abrangendo um intervalo de zero a $>10^6$ UFC/cm². A mediana das 117 escolas para esses microrganismos em cada equipamento ou utensílio foi: bancada, 27,3 UFC/cm²; placa de corte, 15 UFC/cm²; liquidificador, 13,5 UFC/cm²; pratos, 2 UFC/cm²; refrigerador, 1 UFC/cm². A análise desses resultados demonstrou que bancada, placa de corte e liquidificador não diferiram estatisticamente entre si ($P>0,05$), enquanto que refrigerador e pratos diferiram entre si e dos demais utensílios ($P<0,05$).

Distribuindo as escolas avaliadas de acordo com o ponto de corte proposto por Silva Jr. (2008) para superfícies em contato com alimentos (Tabela 3), observa-se que os maiores percentuais de adequação (≤ 50 UFC/cm²) foram observados para as superfícies dos refrigeradores (84,6%) e pratos (78,6%), enquanto as superfícies dos liquidificadores, placas de corte e bancadas apresentaram frequências semelhantes (58,1 – 61,5%) de adequação.

TABELA 3: Distribuição de equipamentos e utensílios de 117 escolas públicas de Porto Alegre, de acordo com o número de mesófilos heterotróficos.

Equipamento/Utensílio	≤ 50 UFC/cm ²		>50 UFC/cm ²	
	n	%	n	%
Bancada	68	58,2	49	41,8
Placa de corte	72	61,5	45	38,5
Liquidificador	74	63,2	43	36,8
Prato	92	78,7	25	21,3
Refrigerador	99	84,6	18	15,4

Os resultados da avaliação das superfícies através da ATP bioluminescência de cinco amostras (quatro de liquidificadores e uma de placa

de corte) foram descartados por incompreensão da leitura obtida. A mediana das medições realizadas em 595 amostras analisadas foi inferior a 40URL/100 cm² para todos os equipamentos e utensílios com exceção da superfície das bancadas que apresentou mediana de 52,5URL/100 cm² (Tabela 4). A análise estatística dos resultados demonstrou que apenas os pratos diferiram de todos os demais utensílios avaliados.

Tabela 4: Distribuição de escolas em relação às superfícies de equipamentos e utensílios avaliadas por meio do ATP bioluminescência segundo sua classificação.

Equipamentos e Utensílios	n	Valores mínimos e máximos	Mediana* (P25 – P75)	>30 URL/100 cm ² (%)
Bancada	120	1 – 2895	52,5 (20 – 150) c	84 (70)
Placa de Corte	119	0 – 2683	37 (11 – 146) bc	70 (59)
Refrigerador	120	0 – 4810	30,5 (9,3 – 89,3) b	60 (50)
Liquidificador	116	0 – 9078	30,5 (9 – 141,5) bc	58 (50)
Prato	120	0 – 7816	14 (7 – 39,5) a	35 (29)

* a, b, c: letras iguais não diferem pelo teste de Wilcoxon a 5% de significância
P25 = Percentil 25 P75 = Percentil 75

A avaliação das superfícies por ATP bioluminescência foi comparada com os resultados de mesófilos heterotróficos e observou-se associação estatisticamente significativa, porém fraca, entre os valores encontrados na medição por luminômetro e as contagens bacterianas, somente para bancada ($r_s=0,241$; $p=0,010$) e placas de corte ($r_s=0,253$; $p=0,008$).

A maioria das escolas apresentava até duas superfícies consideradas inadequadas pelos parâmetros adotados para mesófilos heterotróficos, e até três superfícies para ATP bioluminescência (Tabela 5).

Tabela 5: Distribuição de escolas públicas de Porto Alegre de acordo com o número de superfícies inadequadas em relação ao número de mesófilos heterotróficos (>50 UFC/cm²) e ATP/bioluminescência (≥ 30 URL/100 cm²)

Número de superfícies inadequadas	Mesófilos heterotróficos (n=114)		ATP bioluminescência (n=116)	
	N	%	n	%
0	27	23,7	7	6,0
1	38	33,3	24	20,7
2	29	25,4	20	17,2
3	10	8,8	31	26,7
4	7	6,1	21	18,1
5	3	2,6	13	11,2

Nas escolas em que apenas uma superfície esteve fora do padrão, na avaliação pela ATP bioluminescência a bancada apresentou a maior frequência de inadequação, enquanto que a placa de corte predominou na avaliação de mesófilos heterotróficos. Nas escolas que apresentaram até duas superfícies acima do parâmetro estabelecido para mesófilos heterotróficos a associação mais frequente foi bancada e liquidificador. Na avaliação por ATP bioluminescência a associação mais frequente incluiu a bancada, liquidificador e placa de corte. Entretanto, não houve concordância significativa ($P=0,44$) entre escolas que apresentaram superfícies acima do padrão estabelecido para mesófilos heterotróficos e ATP bioluminescência.

Discussão

Na maioria das escolas, os valores de ATP bioluminescência demonstraram que as superfícies das bancadas e das placas de corte apresentavam higienização inadequada. Metade das escolas obtiveram valores satisfatórios para o liquidificador e refrigerador e a maioria apresentou índices adequados para os pratos. Em relação aos mesófilos heterotróficos a bancada,

placa de corte e liquidificador apresentaram medianas que não diferiram estatisticamente e apresentaram as maiores freqüências de escolas acima do parâmetro estabelecido por Silva Jr. (2008).

Estes resultados sugerem que as bancadas e placas de corte necessitam de uma maior atenção nas escolas, pois foram as que apresentaram as maiores contagens de mesófilos heterotróficos e também os maiores níveis de URL/100cm². Essas duas superfícies também foram isoladamente ou em combinação as mais frequentemente fora do parâmetro adotado.

O presente estudo demonstrou haver associação fraca entre contagem de mesófilos heterotróficos e ATP bioluminescência obtidos na avaliação de bancada e placa de corte e nenhuma associação para as demais superfícies analisadas. A baixa correlação entre as duas técnicas tem sido demonstrada em outros estudos (Costa et al, 2006; Odebrecht et al., 2000; Krynski et al., 1992). A técnica de ATP bioluminescência deve ser aplicada como um indicador de higiene em relação à quantidade de matéria orgânica em superfícies, sendo essa uma informação importante, pois os nutrientes podem favorecer o processo de adesão bacteriana e formação de biofilme (Costa et al, 2006; Pires et al., 2005; Andrade et al, 2003; Andrade , 2008). Por outro lado, a contagem de mesófilos heterotróficos é um indicador de contaminação microbiana e demonstra o risco de presença de microrganismos patogênicos (Andrade et al., 2003; Aycicek et al. 2006).

Equipamentos e utensílios com higienização deficiente têm sido implicados em surtos de DTA ou na contaminação de alimentos processados.

(Kusumaningrun, 2003; Duffrene, 2001; Andrade et al., 2003; Todd et al. 2009). Exemplo disso, um surto ocorrido na Escócia, causado por *E. coli* O157:H7, envolvendo 496 acometidos e ocasionando 17 óbitos, tendo sido associado à contaminação cruzada de carne crua – cozida pelo contato com máquina de moer carne contaminada por essa bactéria (FAO, 2002).

Os resultados obtidos na avaliação de superfície não apresentaram concordância com a classificação do risco sanitário estabelecido pela Lista de Verificação das BP. Tanto as escolas de baixo, como de alto risco sanitário apresentaram frequência semelhante de superfícies acima dos parâmetros adotados para a técnica de ATP bioluminescência quanto para a contagem de mesófilos heterotróficos. Esses resultados, porém, estão em conformidade com o item da Lista de Verificação das BP que indicou a falta de higienização adequada de equipamentos e utensílios em 98% das escolas, demonstrando que as escolas não têm procedimentos padronizados para a higienização. Deve ser considerado que a Lista de Verificação das BP avalia diversos itens relativos ao processo de preparo dos alimentos, condição das edificações e situação dos manipuladores. Dessa forma, observa-se que, mesmo escolas que tenham a maioria dos itens das BP implementados podem falhar na higienização, não sendo a Lista de Verificação das BP o melhor instrumento para avaliar esse item especificamente.

Outro fator que demonstrou a falta de padronização é a ausência de rotinas de higienização e manutenção preventiva dos equipamentos. A falta de temperatura adequada (até 4°C) (Brasil, 2004) nos refrigeradores (60% das escolas) e o acúmulo de gelo (59% das escolas) foi uma das observações mais

frequentes na avaliação das escolas. A temperatura de armazenamento é um parâmetro importante, que influencia na deterioração de alimentos perecíveis e multiplicação microbiana, portanto a falta de controle oferece maior risco para DTA principalmente se associado com preparo inadequado de alimentos e contaminação cruzada em superfícies, como a bancada e placas de corte com deficiente higienização encontradas em nosso estudo (CDC, 2006; Todd et al. 2007; Todd et al., 2009; Tondo & Bartz, 2011).

Na avaliação das superfícies pela presença de mesófilos heterotróficos, os refrigeradores apresentaram a menor mediana (1 UFC/cm²) entre os equipamentos analisados e 84,6% das escolas tinham valores menores que o parâmetro recomendado de ≤ 50 UFC/cm². Isso demonstra que a superfície interna dos refrigeradores não estava contaminada com mesófilos heterotróficos, provavelmente em decorrência da temperatura abaixo da considerada ótima para a proliferação desses microrganismos. Entretanto, na avaliação por ATP bioluminescência 50% dos refrigeradores apresentaram parâmetros insatisfatórios (URL ≥ 30 URL/100cm²), provavelmente em decorrência de falta de degelo e higienização observada em 59% das escolas.

Elevados índices de não conformidades foram encontrados no bloco de Processos e de Manipuladores o que evidencia a falta de procedimentos operacionais padronizados, de treinamento e de postura preventiva contra a ocorrência de DTA. Segundo a OPAS (2006), o treinamento é de importância fundamental para qualquer local de produção de alimentos. Uma capacitação ou instrução sobre a higiene e supervisão insuficientes de pessoas envolvidas nas atividades relacionadas com preparo de alimentos representa uma ameaça

potencial ao consumidor. Por essa razão, a esses dois blocos são atribuídos os maiores pesos relativos (Processos – $k = 30$ e Manipuladores – $k = 25$) na Lista de Verificação de BP, esses blocos são os que contribuem efetivamente para que a maioria das escolas tivesse sua classificação entre situação de risco sanitário regular e alto.

A higienização incorreta das mãos foi apontada na maioria (99%) das escolas do presente estudo, semelhante ao que foi encontrado no estudo conduzido na cidade de Natal/Rio Grande do Norte, onde 100% dos manipuladores não faziam corretamente a higiene das mãos (Campos et al, 2009). As mãos são potenciais veículos de contaminação cruzada entre alimentos e superfícies de contato, e estima-se que a higienização correta das mãos poderia evitar até 34% das infecções por *E.coli* (Todd et al, 2009). O manipulador e o contato com superfícies contaminadas, como as encontradas no presente estudo, podem determinar a contaminação cruzada dos alimentos. Além disso, o armazenamento em temperatura incorreta em 67% das escolas, principal problema observado no bloco de processos e procedimentos, pode favorecer a multiplicação microbiana e o aumento do risco de ocorrência de DTA.

O bloco das Edificações apresentou o maior número de itens não conformes na avaliação através da Lista de Verificação das BP. Nenhuma escola foi classificada com risco sanitário baixo ou muito baixo. Estudos realizados em escolas de outros estados do país também encontraram resultados semelhantes (Santana et al., 2009; Vieira et al., 2005). Ao contrário dos demais blocos da Lista de Verificação das BP, esse está mais ligado ao

investimento do poder público na melhoria das escolas e demonstra a falta de renovação e manutenção das mesmas.

Por outro lado, nos blocos referentes a Manipuladores, Processos e Procedimentos e Higienização as deficiências somente serão revertidas por meio de treinamento e capacitação dos envolvidos no preparo da alimentação escolar e pelo monitoramento por técnico da área de nutrição.

As bancadas e placas de corte apresentaram as contagens mais elevadas de mesófilos heterotróficos e os maiores índices de inadequação na ATP bioluminescência, indicando que são as superfícies de maior risco para a contaminação dos alimentos.

Não houve forte associação entre os resultados de ATP bioluminescência e contagem de mesófilos heterotróficos em nenhuma das superfícies analisadas, portanto essas técnicas não são equivalentes no monitoramento de superfícies.

Independente da classificação do risco sanitário por meio da aplicação da Lista de Verificação das BP, as escolas apresentaram deficiência na higienização de superfícies em contato com alimentos.

O investimento em melhorias estruturais das escolas, na capacitação de manipuladores de alimentos e da supervisão por técnico nutricionista deve ser incrementado nas escolas.

Referências bibliográficas

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em Unidades de Alimentação e Nutrição. **Ciênc. Agrotec.**, v. 27, n. 3, p. 590–596, 2003.

ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 412p.

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

BARTZ, S.; RITTER, A.C.; TONDO, E.C. Evaluation of bacterial multiplication in cleaning cloths containing different quantities of organic matter. **Infect Dev Ctries**. v. 4, n. 9, p. 566–571, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº216 de 15 de setembro de 2004. Brasília, 2004b. Dispõe sobre: Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 16 set 2004. Disponível em: <[http://www..anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)>. Acesso em: 10 jul 2009.

BRASIL. Portaria Interministerial Nº 1.010 de 8 de maio de 2006. Institui as diretrizes para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas de educação infantil, fundamental e nível médio das redes públicas e privadas, em âmbito nacional. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, Brasília, 2006. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2006/GM/GM-1010.htm>>. Acesso em: 03 dez 2009.

BRASIL, Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação – FNDE. **Alimentação Escolar**. 2010. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/index.php/programas-alimentacao-escolar>> Acesso em: 05 mar 2010.

CAMPOS, A. K. C. et al. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. **Food Control**, v. 20, p. 807–810, 2009.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 1998-2002**. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm#top>>. Acesso em: 20 jan 2010.

COSTA, P. D. et al., ATP-Bioluminescence assay as an alternative for hygiene-monitoring procedures of stainless steel milk contact surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**. n. 37, p. 345–349, 2006.

DUFRENNE, J. et al. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with Salmonella and Campylobacter. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 538–541, 2001.

FAO/WHO. Global Forum of Food Safety Regulators, Marrakesh, Morocco, 28–30 January 2002. **Escherichia coli O157:H7 outbreak in Scotland in 1996/97** Submitted by the United Kingdom. Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/MEETING/004/X6925E.HTM>>. Acesso em: 29 nov 2007.

FARCHE, L. M. et al., O Panorama Higiênico-sanitário nas Cozinhas das Escolas da Rede Pública de Franca, SP. **Higiene Alimentar**. v. 21, p. 27–29, 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiology of Safe Food**. 2 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010.

GELLI, I. A. et al. Condições higiênico-sanitárias no pré-preparo de carne bovina em restaurante universitário de Uberlândia, MG. **Higiene Alimentar**, v. 19, p. 27–30, 2005.

IBGE. 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Vol. 2011, Ministério do Planejamento, Orçamento e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao>>. Acesso em: 20 jan 2011.

KRYSINSKI, E. P.; BROWN, L. J.; MARCHISELLO, T. J. Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces. **J. Food Protec.**, v. 55, p. 246–251, 1992.

KUSUMANINGRUM, H. D. et al. Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. **International Journal of Food Microbiology**. n. 85, p. 227–236, 2003.

ODEBRECHT, E.; SCHMIDT, H. J.; FRANCO, B. D. G. M. Studies on applicability of bioluminescence in the brewery. Comparative studies and critical evaluation. **Brauwelt**, v. 140, p. 1904-1915, 2000.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. **Codex Alimentarius, Higiene dos Alimentos** – Textos Básicos / Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Food and Agriculture Organization of the United Nations. – Brasília: 2006.

PIRES, A. C. S. et al. Condições higiênicas de fatiadores de frios avaliadas por ATP bioluminescência e contagem microbiana: sugestão de higienização conforme RDC 275 da ANVISA. **Alim. Nutr., Araraquara**. v. 16, p. 123–129, 2005.

RS – RIO GRANDE DE SUL. Secretaria de Estado de Saúde. Portaria SES/RS nº. 542, de 19 de outubro de 2006. Aprova a lista de verificação em Boas Práticas para serviços de alimentação, aprova normas para cursos de capacitação em Boas Práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 19 out 2006.

RS – RIO GRANDE DO SUL. Portaria SES/RS nº. 78, de 30 de janeiro de 2009. Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, aprova Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul**. Secretaria da Saúde, Porto Alegre, RS. 1ª Edição, p. 35–40.

SANTANA, N. G. et al. Microbiological quality and safety of meals served to children and adoption of good manufacturing practices in public school catering in Brazil. **Food Control**. v. 20, p. 255–261, 2009.

SÃO JOSÉ, F. B.; SANT'ANA, H. M. P. Avaliação das Boas Práticas de Manipulação em Unidades de Alimentação Escolar. **Nutrire = J. Brazilian Soc. Food Nutr**. v. 33, p. 123–138, 2008.

SILVA JR., E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**. Ed Varela, 6ª. edição. São Paulo, 2008. 479 p.

SP – SÃO PAULO (Estado). Resolução SS-196 de 29 de dezembro de 98. Apresenta os roteiros e guias de inspeção em Vigilância Sanitária. 1998. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 1998. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/res196.asp>> Acesso em: 10 set 2009.

SP – SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde. Portaria CVS 06 de 10 de março de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece os parâmetros e critérios para controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 mar 1999.

TODD, E. C D. et al. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 3. Factors Contributing to Outbreaks and Description of Outbreak Categories. **Journal of Food Protection**. v. 70, n. 9, p. 2199–2217, 2007.

TODD, E.C.D. et al. Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 6. Transmission and Survival of Pathogens in the Food Processing and Preparation Environment. **Journal of Food Protection**, v.72, n.1, p. 202–219, 2009.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. **Microbiologia e Sistema de Gestão da Segurança de Alimentos**. Editora Sulina 1ª edição Porto Alegre, 2011, 263 p.

VIEIRA, C. R. N. et al. Qualidade microbiologica da merenda escolar servida nas escolas estaduais de Poços de Caldas, MG. **Higiene Alimentar**. v. 19 p. 90–94, 2005.

5.4 Artigo 4

5.4.1 Pesquisa de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre

**Pesquisa de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em
alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre**

Ana Beatriz Almeida de Oliveira, Roberta Capalonga, Joice Trindade Silveira,
Eduardo Cesar Tondo, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

Resumo

Os alimentos oferecidos aos escolares devem satisfazer parte de suas exigências biológicas e devem ser inócuos. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em amostras de alimentos servidos em escolas públicas do município de Porto Alegre. Os alimentos coletados foram analisados quanto à presença de *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. No total de 196 alimentos analisados, quatro apresentavam contagem de *E. coli* acima do permitido pela legislação e dois tinham a presença de *Staphylococcus coagulase positiva*. Os gêneros *Shigella* e *Salmonella* não foram encontrados. Como é possível observar pela análise dos resultados, a maioria das escolas estudadas, servia alimentos dentro de padrões higiênico-sanitários adequados. Entretanto, foi observado que somente escolas municipais contavam com a orientação de responsável técnico pela alimentação escolar. Enquanto que 60% das escolas estaduais nunca haviam recebido visita desse profissional. Nessas escolas foram encontrados procedimentos em desacordo com as exigências da legislação, no que se refere à manipulação e distribuição dos alimentos preparados.

Palavras – chave: segurança dos alimentos, escolas, *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e manipulação de alimentos

Introdução

De acordo com os princípios de uma alimentação saudável, todos os grupos de alimentos devem compor a dieta diária. Ela deve fornecer água, carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas, fibras e minerais, os quais são insubstituíveis e indispensáveis ao bom funcionamento do organismo (Brasil, 2005; USDA, 2011).

Os alimentos oferecidos aos escolares devem satisfazer parte de suas exigências biológicas; é essencial que possam ser aproveitados pelo organismo e tenham condição de exercer sua função nutricional (Brasil, 2010). Além disso, os alimentos devem ser inócuos, uma vez que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são uma das principais causas que contribuem para os índices de morbidade no país (Brasil, 2010, São Paulo, 2008).

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), criado em 1955, e atualmente gerenciado pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) do Ministério da Educação, atendeu 45 milhões de escolares no ano de 2010, o que representa mais de 25% da população brasileira, visando fornecer uma alimentação saudável e contribuir para o desenvolvimento e aprendizado dos alunos. O programa é organizado de forma que o governo federal transfere recursos financeiros para a aquisição de gêneros alimentícios

destinados a suprir parte das necessidades nutricionais dos estudantes, enquanto que estados e municípios são responsáveis pela distribuição desses alimentos nas escolas de ensino público do país (Brasil, 2010; Santos, 2007).

Com o objetivo de qualificar a gestão e o controle social do PNAE, foram instituídos oito Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANEs), em uma parceria entre o FNDE e universidades federais brasileiras (BRASIL, 2006a). O CECANE da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) tem atuado regionalmente, realizando pesquisas e ações de apoio técnico a municípios do estado. As atividades desenvolvidas pelo CECANE/UFRGS abrangem a capacitação de profissionais que atuam na preparação da alimentação nas escolas, a avaliação da situação nutricional dos estudantes, bem como o levantamento da qualidade dos alimentos servidos nas escolas.

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi verificar a qualidade higiênico-sanitária e o tipo de alimentos servidos em escolas públicas do município de Porto Alegre.

Material e Métodos

Delineamento experimental

Um estudo transversal foi conduzido em escolas públicas municipais e estaduais, atendidas pelo PNAE, localizadas no município de Porto Alegre e que contavam com mais de 100 alunos matriculados no período de outubro de 2008 a junho de 2009.

O número de escolas amostradas (n=120) foi calculado considerando-se um total de 282 escolas públicas, uma prevalência esperada de 50% de escolas com alguma falha no processamento de alimentos, um intervalo de confiança de 95% e uma precisão absoluta de 5% (EPI-INFO, versão 3.5.1). Com o intuito de manter a proporção dos dois estratos de escolas (estaduais e municipais) no total de amostras, determinou-se que seriam coletadas amostras em 100 escolas estaduais e 20 escolas municipais. As unidades amostradas foram sorteadas a partir dos cadastros de escolas públicas de cada um dos estratos, disponíveis na Secretaria Estadual de Educação e Secretaria Municipal de Educação. Todas as escolas foram visitadas, sem aviso prévio, após autorização das respectivas Secretarias de Educação. Foi requerido o consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2) de todos os entrevistados. Em cada escola foram analisados todos os alimentos servidos na refeição do turno da visita. Devido à diversidade de tipos de alimentos entre escolas, as amostras foram avaliadas quanto à contagem de dois indicadores higiênico-sanitários (*Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*) e presença de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.

Esse estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Projeto nº 17265).

Coleta de dados

Em cada escola amostrada, foi aplicado um questionário com perguntas sobre: *i.* presença de responsável técnico (nutricionista); *ii.* existência de Manual de Boas Práticas (MBP); *iii.* treinamento dos manipuladores; *iv.*

utilização de equipamento térmico para manter a temperatura dos alimentos no momento da distribuição; v. higienização das verduras, legumes e frutas distribuídos aos escolares com solução clorada (200 a 250 ppm) por 15 minutos, seguida de enxágue em água potável, conforme legislação vigente (Rio Grande do Sul, 2009).

Coleta das amostras

Foram coletados 100g de cada alimento, os quais foram acondicionados, individualmente, em sacos plásticos estéreis, que foram fechados, identificados e armazenados em bolsas térmicas para transporte até o Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS.

Alíquotas (25 g ou 25 mL) de cada amostra de alimento foram retiradas assépticamente e diluídas (10^{-1}) em 225 mL de Água Peptonada (AP) 0,1%, homogeneizadas em vórtice (Interscience) por 5 segundos e, a seguir, diluídas até 10^{-2} e 10^{-3} em AP 0,1%.

Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

Alíquotas (0,1mL) das diluições realizadas em AP 0,1% foram semeadas em ágar Baird-Parker (BP – Merck, Darmstadt, Germany) suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito (*Egg Yolk Tellurite Emulsion* – Merck). As placas foram incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas, e as colônias típicas do gênero *Staphylococcus* (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) foram contadas. Cinco colônias típicas foram transferidas,

individualmente, para caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI – Merck) e incubadas por 18 h á 37°C. Após, alíquotas (0,2 mL) da cultura foram adicionadas á 0,5mL de plasma de coelho (Laborclin), homogeneizadas e incubadas a 37±1°C. Em intervalos de uma hora, por até quatro horas, os tubos foram avaliados quanto à presença de coágulo. Nos tubos em que a reação não foi observada nesse período, estendeu-se a incubação por até 24 horas. Colônias que resultaram em formação de coágulo foram confirmadas como coagulase positivas. O cálculo do número de Unidades Formadoras de Colônia de *Staphylococcus* coagulase positiva foi calculado de acordo com (Silva et al., 2007) pela seguinte fórmula:

UFC/g ou mL de alimento = Número de colônias típicas x Inverso da Diluição x 10 x % colônias confirmadas.

Enumeração de *Escherichia coli*

Para contagem de *E.coli*, foi pipetado, em duplicata, 1mL de cada diluição em AP 0,1% em placas de Petri estéreis. A seguir, foi vertido cerca de 10 mL de Ágar Vermelho Violeta Bile com Lactose (VRB – Merck), previamente fundido. Após homogeneização e repouso até solidificação, foi vertido cerca de 5 mL para formação de sobre camada. Após solidificação do meio, as placas foram incubadas a 36±1°C por 24 horas. Após, colônias características de enterobactérias (vermelho púrpura, rodeados por halo avermelhado de precipitação de sais biliares) foram contadas. Cinco colônias características foram inoculadas em tubos contendo caldo MUG Lauril Sulfato (Himedia, Índia), providos de tubos Durhan, e mantidos em banho-maria (36±1°C por 24 horas).

A confirmação de *E. coli* foi feita pela presença de fluorescência, quando da exposição do tubo à luz ultravioleta (365 nm). A enumeração de *E. coli* foi feita pela seguinte fórmula:

UFC/g ou mL de alimento = Número de colônias típicas x Inverso da Diluição x % colônias confirmadas.

Pesquisa de *Salmonella* sp. e *Shigella* sp.

Para isolamento e identificação de *Salmonella* sp. e *Shigella*, as amostras (25 g ou 25 mL) foram acrescidas à Água Peptonada Tamponada 1% (APT, Merck), homogeneizadas e incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h. Alíquotas de 1mL foram repicadas para caldo Tetracionato (Merck) e 0,1mL para caldo Rappaport – Vassiliadis (Merck), sendo mantidas em banho-maria a 42°C por 24h. A partir dos caldos seletivos, foram repicados, em placas de ágar SS (*Salmonella* e *Shigella* – Merck) e ágar XLD (Xilose-Lisina Desoxicolato – Merck). Essas placas foram incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Posteriormente, as placas foram observadas, colônias típicas ou suspeitas foram repicadas em ágar Triptona de Soja (TSA – Merck) e confirmadas por testes bioquímicos conforme Silva et al. (2007).

Análise dos resultados

Os alimentos servidos nas escolas foram classificados de acordo com a classificação hierárquica de risco de veiculação de agentes causadores de surtos de DTA, segundo Greig e Ravel (2009). Os tipos de alimentos servidos nas escolas municipais e estaduais foram comparados pelo Teste Qui-quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fisher, em nível de significância de

$P < 0,05$. As contagens de *E.coli* obtidas foram comparadas com os parâmetros estabelecidos para Coliformes à 45⁰C na RDC 12/2001 (Brasil, 2001).

Resultados

Das 120 escolas estudadas, foram analisados 196 alimentos, sendo 149 (76%) coletados em escolas estaduais e 47 (24%) em escolas municipais. O número de alimentos coletados por escola variou de acordo com as preparações servidas por cada escola no dia da coleta (variando de um a cinco).

Os alimentos coletados foram distribuídos de forma heterogênea nos grupos hierárquicos de maior ou menor risco de veiculação de agentes causadores de DTA, conforme Greig e Ravel (2009) (Tabela 1). O maior número de amostras coletadas foi classificado no grupo dos cereais e leguminosas, seguida do grupo de cereais e carnes, tanto em escolas municipais como estaduais (Figura 1). Estes dois grupos representaram 46% dos alimentos coletados. Entretanto, nas escolas estaduais, o terceiro grupo mais frequente foi o de biscoitos, bolachas e bolos (17%), enquanto nas municipais foi de carne bovina e de frango (15%). As escolas municipais serviram significativamente mais carne, frango e ovos ($P < 0,05$) e cereais ($P < 0,04$) do que as escolas estaduais.

Tabela 1. Alimentos coletados em 120 escolas da rede pública de ensino de Porto Alegre/RS, distribuídos de acordo com a classificação crescente de risco de envolvimento em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, proposta por Greig e Ravel (2009).

Categorias (Nº de preparações coletadas)	Subcategorias (Nº de preparações coletadas)
1 Carne Bovina (7)	Carne com molho (3) Carne moída (2) Hambúrger (1) Almôndega (1)
2 Carne de frango (4)	Frango com molho (4)
3 Embutidos (3)	Salsicha (1) Patê (2)
4 Ovos (1)	Leite com gemada (1)
5 Produtos Lácteos (24)	Leite com achocolatado (10) Creme (11) Leite (2) Iogurte (1)
6 Multi-ingredientes Produtos lácteos(12)	Leite com cereal (4) Arroz doce (2) Torta de bolacha (2) Vitamina (2) Creme de banana caramelada (1) Milho com leite (1)
7 Frutas e Verduras (14)	Salada de frutas (2) Salada de repolho (2) Salada de alface (2) Salada de beterraba (1) Salada de repolho e tomate (2) Salada de cenoura e repolho (1) Salada de vagem (1) Salada de repolho, tomate e rúcula (1) Salada de tomate e cebola (1) Salada de couve, cenoura, repolho e grão de bico (1)
8 Cereais e leguminosas (51)	Arroz (14) Feijão (14) Lentilha (8) Polenta (9) Aipim (1) Macarrão (1) Batata doce (1) Cereal de milho (3)
9 Multi-ingredientes cereais e carnes (40)	Macarrão com molho de carnes (8) Carreteiro (6) Risoto (5) Molho com salsicha (4) Molho (2) Sopa (3) Cachorro quente (2) Arroz com salsicha (2) Macarrão com molho (1) Guisado com batata (1) Aipim com carne (1) Frango com seleta de legumes (1) Presunto, queijo e maionese (1) Torta de legumes (1) Pizza de salsicha (1) Arroz com milho e ervilha (1)
10 Bebidas (6)	Suco de fruta em pó (5) Chá-mate (1)
11 Bolos, bolachas, biscoitos e pães (29)	Bolacha doce (14) Pão (8) Bolacha salgada (3) Bolo (2) Bolo frito (1) Cuca (1)
12 Doces sem leite (5)	Sagu (4) Gelatina (1)
Total	196

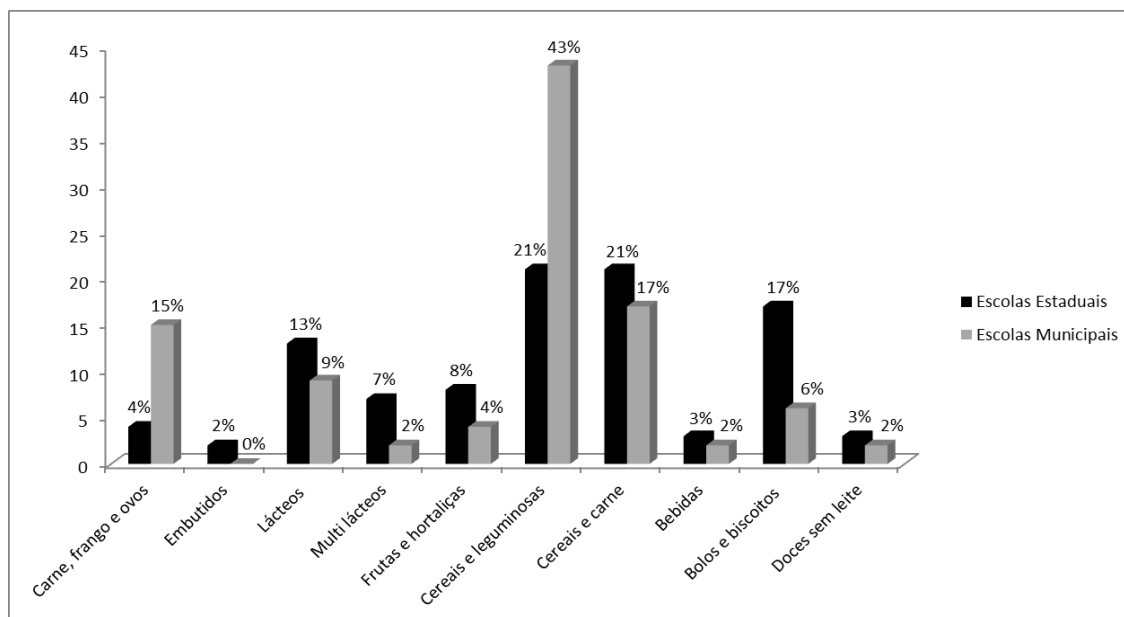


Figura 1. Distribuição dos grupos de alimentos servidos em escolas estaduais e municipais de Porto Alegre.

Na amostra de leite com banana, em que foi isolado *Staphylococcus* coagulase positiva, também foi constatada a presença de *E. coli*. Essa foi a única preparação no qual foram isolados dois tipos de bactérias potencialmente patogênicas.

Os cinco alimentos com presença de *E. coli* em contagem acima da permitida pela legislação vigente para Coliformes à 45⁰C foram os seguintes: dois leites achocolatados; um leite achocolatado adicionado de aveia e duas amostras de bolacha doce. Desses, dois alimentos (um leite achocolatado e uma amostra de bolacha doce) foram coletados na mesma escola. Em outras duas escolas (uma estadual e uma municipal), também foram encontrados mais de um alimento com presença de *E. coli*. Nesse caso, porém, as contagens

desta bactéria estavam abaixo do limite previsto para Coliformes à 45⁰C (Brasil, 2001).

Tabela 02. Alimentos coletados em escolas estaduais (E) e municipais (M) de Porto Alegre com presença de *Escherichia coli*.

Escola	Alimentos	Contagem obtida (UFC/mL ou g)	Parâmetros Legislação [§] Coliformes termotolerantes (UFC/mL ou g)
1 E	Bolacha doce*	47	até 10
1 E	Leite achocolatado*	13	até 04
2 E	Bolacha doce*	19	até 10
3 E	Leite achocolatado*	8	até 04
4 E	Leite achocolatado + aveia*	47	até 04
5 E	Batida de Banana	3	até 04
6 E	Frango + seleta de legumes	4	até 2x10
7 E	Massa + guisado	2	2x10
7 E	Repolho + Tomate	5	até 10 ²
8 E	Cenoura + Couve + Repolho	37	até 10 ²
9 E	Cereal Matinal	1	até 10
10 E	Bolacha doce	1	até 10
11 E	Pão doce	9	até 10 ²
12 E	Salada de Frutas	1	5x10 ²
13 E	Repolho + Tomate	25	até 10 ²
14 E	Salsicha	3	até 10 ³
15 E	Sopa	1	até 10
16 E	Sopa de Feijão	2	até 100
17 M	Cenoura + Repolho	3	até 10 ²
18 M	Feijão	11	até 10 ²
18 M	Tomate + Cebola	6	até 10 ²
19 M	Carne + aipim	5	até 2x10

§ RDC 12/2001

*Alimentos com contagem de *E.coli* acima do previsto na legislação para Coliformes à 45⁰C

A partir do questionário aplicado nas 120 escolas, foi verificado que 83% não desinfetavam, na forma indicada pela legislação (RS, 2009; Brasil, 2004b), as verduras, os legumes e as frutas que seriam ingeridos crus ou com

casca. Todas as escolas municipais possuíam equipamento térmico para manter os alimentos quentes durante a distribuição das refeições, enquanto nas escolas estaduais, apenas em oito (8%) havia esse equipamento.

Ficou demonstrado que as escolas municipais mantinham um responsável técnico (nutricionista) para cada dez escolas; enquanto mais de 60% das escolas estaduais nunca haviam recebido assessoramento técnico. Quanto à presença de MBP, 78% das escolas estaduais e 30% das municipais não o possuíam. Os manipuladores de alimentos, em 69% das escolas, já tinham recebido algum tipo de capacitação sobre segurança dos alimentos.

Discussão

Entre os 196 alimentos amostrados, cinco tinham a presença de *E.coli* acima dos parâmetros da legislação para Coliformes à 45°C, e em dois foi encontrado *Staphylococcus* coagulase positiva. Essas bactérias são utilizadas como indicadores higiênico-sanitários da manipulação de alimentos. *E. coli* pertence ao grupo dos coliformes á 45°C, porém, ao contrário desses, tem origem exclusivamente fecal. Dessa forma, é considerado o indicador de contaminação fecal mais específico (Andrade, 2008; Brasil, 2004a). Por outro lado, *Staphylococcus* coagulase positiva podem estar presentes na pele e mucosas dos humanos, e indicam falhas na manipulação dos alimentos (Michelin et al., 2006; Michino & Otsuki, 2000).

Os sete alimentos considerados fora dos padrões higiênico-sanitários adequados eram todos provenientes de escolas estaduais, apesar das escolas

municipais servirem alimentos de grupo de maior risco (carne, frango e ovos) com maior frequência.

O leite, alimento que participou de três amostras do total acima citado, ocupa um lugar de destaque do ponto de vista nutricional, por ser um dos alimentos mais ricos em nutrientes, principalmente cálcio. Isso é particularmente importante para os escolares em fase de crescimento (USDA, 2011). Por outro lado, é um alimento classificado como de alto risco como fonte veiculadora de patógenos (Greig & Ravel, 2009). Segundo Buyser et al. (2001) esse tipo de alimento pode estar envolvido em 2 – 6% dos surtos de DTA de origem bacteriana.

Ao contrário, as bolachas doces apresentam baixa atividade de água, o que não favorece a multiplicação bacteriana, sendo, portanto, considerados alimentos de baixo risco. Além disso, é um alimento não recomendável como principal fonte de alimentação, devido à elevada quantidade de calorias em relação à baixa quantidade de nutrientes (USDA, 2011). Nas duas amostras de bolacha doce com presença de *E. coli* possivelmente tenha ocorrido contaminação cruzada, pois o contato direto das mãos ou recipientes contaminados pode ser suficiente para transferir para o produto uma quantidade de bactérias suficiente até mesmo para causar doença (Greig et al., 2007). A contaminação cruzada durante o preparo dos alimentos também pode ser evidenciado em três escolas (1E, 7E, 18M) que apresentaram mais de um alimento de diferentes grupos hierárquicos com presença de *E.coli*.

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva numa amostra de leite com banana e no pão com margarina, também indica falhas de

processamento, pois o preparo desse alimento envolve a manipulação ou o contato com equipamentos de risco, como o liquidificador. Além disso, essas preparações são ingeridas sem tratamento térmico prévio e este microrganismo tem sido frequentemente responsável por surtos de toxinose alimentar (Michelin et al., 2006; Michino & Otsuki, 2000).

Os demais alimentos coletados apresentavam ausência ou baixas contagens de *E.coli*. Dentre esses, encontravam-se os alimentos do grupo de cereais/leguminosas e cereais/carnes que constituíram 46% dos alimentos servidos nas escolas. No grupo dos cereais/leguminosas a preparação, tipicamente brasileira, arroz com feijão foi a mais frequente, sendo uma combinação alimentar saudável, pois os aminoácidos, lisina (feijão) e metionina (arroz) são complementares nutricionalmente (Londero et al., 2009; Philippi, 2006).

A presença das carnes no cardápio dos escolares também é considerado imprescindível, pois contém nutrientes fundamentais para o crescimento e desempenham a função construtora no organismo humano. São fontes de proteínas de alto valor biológico, gorduras, vitaminas, principalmente as do complexo B, e minerais, como o ferro (Rooke et al., 2010; USDA, 2011). Observa-se que o grupo das carnes estava significativamente mais presente nas escolas municipais do que nas estaduais. Esse grupo de alimentos não apresentou presença de *E. coli* ou *Staphylococcus* coagulase positiva, sugerindo que as escolas realizavam cozimento suficiente e mantinham a temperatura adequada no momento da distribuição do alimento aos escolares não permitindo a proliferação de microrganismos. Apesar de constituírem o

grupo de maior risco para ocorrência de DTA, a presença de *E. coli*, em baixas contagens, só foi detectada quando a carne estava combinada com outros ingredientes (frango com seleta de legumes, massa com guisado, carne com aipim), provavelmente devido ao maior contato com manipuladores e superfícies contaminadas, exigido durante sua preparação (Todd et al, 2007).

Segundo Greig et al. (2007), todas as DTA são fundamentalmente evitáveis por meio da modificação da conduta dos manipuladores. Os resultados do presente estudo demonstraram que a maioria dos manipuladores das escolas já tinha recebido algum tipo de formação sobre a inocuidade dos alimentos, porém avaliações periódicas de sua conduta são necessárias (OPAS, 2006). A supervisão e o controle da rotina dos serviços de alimentação também devem ser efetuados para garantir que os procedimentos sejam implantados de forma eficaz. Os responsáveis pela produção de refeições devem ter conhecimento dos princípios e práticas de higiene dos alimentos, a fim de avaliar os riscos potenciais e tomar medidas necessárias para corrigir as deficiências (Rio Grande do Sul, 2009; OPAS, 2006).

Em muitas escolas estaduais, a responsabilidade da coordenação da alimentação escolar cabia à direção da escola, que não possuía formação técnica para exercer este tipo de supervisão. No Brasil, a Resolução do Conselho Federal de Nutricionistas – CFN nº 465/2010 dispõe sobre as atribuições do nutricionista no PNAE, dentre elas: a elaboração e o acompanhamento dos cardápios, a elaboração do MBP e o acompanhamento dos envolvidos na alimentação escolar para que os alimentos servidos

alcancem os objetivos de satisfazer as necessidades nutricionais e manter a saúde dos escolares. A falta desse profissional, na maioria das escolas estaduais, teve como consequência a ausência do MBP, o que está em desacordo com a legislação nacional e estadual (Brasil, 2004; Rio Grande do Sul, 2009) que exigem esse documento, com a finalidade de padronização dos procedimentos realizados no processamento das refeições, a fim de garantir a segurança dos alimentos a serem distribuídos aos escolares.

A ausência de procedimentos padronizados pode ser demonstrada pela higienização inadequada de frutas e hortaliças, observada em 83% das escolas. Como resultado, esse foi o grupo com maior ocorrência (42,8%) de *E.coli*, mesmo que em baixas contagens. É importante a presença das frutas e hortaliças na alimentação escolar, pois são ricas em vitaminas, minerais e fibras e contribuem para a proteção à saúde e a diminuição do risco de ocorrência de várias doenças (USDA, 2011, Brasil, 2005), porém podem ser veículos de agentes causadores de DTA. Em nível global, foram responsáveis, entre 1990 e 2005, por 13% dos surtos com fonte alimentar identificada, sendo que as saladas verdes foram uma das mais envolvidas em casos de DTA (Tauxe et al., 2010).

Na maioria das escolas estudadas, os alimentos servidos aos escolares estavam dentro de padrões higiênico-sanitários adequados, pois não foram encontradas bactérias do gênero *Salmonella* e *Shigella*, apenas cinco apresentavam *E. coli* acima dos parâmetros da legislação e dois tinham a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Entretanto, problemas foram detectados no cumprimento da presença do responsável técnico pela

alimentação escolar, o que determinou que uma parcela das escolas estivesse em desacordo com as exigências da legislação. Nas escolas estaduais, onde não havia nutricionista para supervisão e controle das rotinas, os escolares recebiam maior quantidade de alimentos de baixo valor nutricional do que nas escolas municipais. Além disso, os alimentos oferecidos nessas escolas apresentavam, com maior frequência, a presença das bactérias pesquisadas, inclusive aqueles alimentos do grupo considerado de menor risco como fonte veiculadora de patógenos. Esse resultado demonstra a necessidade da implantação das BP no ambiente escolar como fator indispensável para que os alunos recebam alimentos seguros.

Referências Bibliográficas

ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 412p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre: Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 10 jan 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 nov 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. Brasília, 2004. Dispõe sobre: Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 16 set 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 nov 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Secretaria de Atenção à Saúde, Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. 2005. 236p.

BRASIL. Portaria Interministerial Nº 1.010, de 8 de maio de 2006. Institui as diretrizes para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas de educação infantil, fundamental e nível médio das redes públicas e privadas, em âmbito nacional. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 09 mai 2006. Disponível

em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2006/GM/GM-1010.htm>>
> Acesso em: 03 dez 2009.

BRASIL. Ministério da Educação Portal do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. **Alimentação Escolar**. 2010. Disponível em: <<http://www.fnnde.gov.br/index.php/programas-alimentacao-escolar>>. Acesso em: 11 jul 2010.

DE BUYSER, M. L. et al. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. **International Journal of Food Microbiology**. v. 67, p. 1–17, 2001.

GREIG, J. D. et al. Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 1. Description of the Problem, Methods, and Agents Involved. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 7, p. 1752–1761. 2007.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution, **International Journal of Food Microbiology**. n. 130, p. 77–87, 2009.

LONDERO, P. M. G. et al. Efeito materno na expressão dos teores de aminoácidos sulfurados em grãos de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, p. 1–4, 2009.

MICHELIN, A. F.; CARMO, L. S.; CARLOS, I. Z. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigui, São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. n. 65, p. 46–49, 2006.

MICHINO, H.; OTSUKI, K. Risk Factors in Causing Outbreaks of Food-Borne Illness Originating in School Lunch Facilities in Japan, **J. Vet. Med. Sci**. n. 62, p. 557–560, 2000.

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. **Codex Alimentarius, Higiene dos Alimentos** – Textos Básicos / Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Food and Agriculture Organization of the United Nations. – Brasília: 2006.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e Técnica Dietética** Ed. Manole 2ª edição Barueri 2006.

ROOKE, J. A.; FLOCKHART, J. F.; SPARKS, N. H. The potential for increasing the concentrations of micro-nutrients relevant to human nutrition in meat, milk and eggs. **Journal of Agricultural Science**, v. 148, p. 603–614, 2010.

RS – RIO GRANDE DO SUL. Portaria SES/RS nº. 78, de 30 de janeiro de 2009. Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, aprova Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e dá outras providências. **Diário Oficial do**

Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria da Saúde, Porto Alegre, RS. 1ª Edição, p. 35-40.

SANTOS, L.M.P.S. et al. Avaliação de políticas públicas de segurança e combate à fome no período 1995-2002. 4 – Programa Nacional de Alimentação Escolar. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, p. 2681–2693, 2007.

SP – SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, **Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE**, Doenças Transmitidas por Alimentos, Estado de São Paulo. 1999-2008. Trabalho apresentado no III Seminário WHO Global Salmonella Surveillance, 29/09 a 03/10/2008, Brasília, DF, Brasil. set. 2008. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_vdtaa.htm>. Acesso em: 10 mar 2010.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise de alimentos**. 3ed. São Paulo: Varela. 2007. 544p.

TAUXE, R. V. et al. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections **International Journal of Food Microbiology**. v. 139, p. 516–528, 2010.

TODD, E.C.D. et al. Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 3. Factors Contributing to Outbreaks and Description of Outbreak Categories. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 9, p. 2199–2217, 2007.

USDA – United States Department of Agriculture Choose My Plate.gov. Last Modified: June 04, 2011. Disponível em: <http://www.choosemyplate.gov/foodgroups/fruits_why.html>. Acesso em: 18 mai 2011.

6 CONCLUSÕES

- Na maioria das escolas estudadas, a água servida aos escolares e utilizada no preparo dos alimentos estava dentro dos padrões de potabilidade previstos na legislação. Entretanto, problemas foram detectados em grande parte das escolas relativos à manutenção e higienização dos reservatórios de água.

- O maior percentual foi de escolas classificadas em situação de risco sanitário regular segundo a classificação prevista na Lista de Verificação das Boas Práticas desenvolvida para o ambiente escolar.

- As superfícies de bancadas e placas de corte apresentaram as contagens mais elevadas de mesófilos heterotróficos e de matéria orgânica detectada pela técnica de ATP bioluminescência. Dessa forma, são as superfícies que devem receber mais atenção com respeito aos procedimentos de higienização.

- Na maioria das escolas estudadas, os alimentos servidos aos escolares estavam dentro de padrões higiênico-sanitários adequados. Entretanto, não havia orientação técnica na maioria das escolas estaduais, levando à ausência de procedimentos adequados na manipulação e distribuição dos alimentos.

- Os maiores índices de não-conformidades foram encontrados na avaliação de edificações, manipuladores, processos e higienização ambiental. Isso demonstra que há necessidade de investimento por parte do poder público e assessoramento por profissional capacitado.

- Os resultados demonstraram que ainda há aspectos a serem melhorados nas escolas atendidas pelo PNAE e o CECANE/UFRGS deve permanecer atuando na capacitação dos profissionais envolvidos no preparo da alimentação escolar.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo demonstraram a necessidade de maior atenção e monitoramento da higienização e manutenção dos reservatórios de água e das edificações das escolas públicas de Porto Alegre. Esse resultado evidencia a carência de investimento do poder público na melhoria das escolas.

Entretanto, houve diferença entre as escolas estaduais e municipais em praticamente todos os itens avaliados na Lista de Verificação das Boas Práticas. As escolas estaduais não possuíam técnicos na área de nutrição em mais de 60% das escolas. Sendo assim, as escolas estaduais serviam mais alimentos de baixo valor nutricional e apresentaram pior qualidade higiênico-sanitária.

Os alimentos, as superfícies contaminadas e com presença de matéria orgânica e os altos índices de inadequação dos blocos de manipuladores, processos e procedimentos e higienização demonstram a necessidade de treinamento e implantação de um programa de qualidade como o de Boas Práticas de Manipulação e Processamento na produção da alimentação escolar. Esses resultados nortearam ações do CECANE/UFRGS.

Após o término da pesquisa, foi realizada reunião com os responsáveis pela alimentação escolar da Secretaria Municipal de Educação e da Coordenadoria Regional de Educação de Porto Alegre. Os encontros tiveram

como objetivo apresentar e entregar relatório com os resultados encontrados nas escolas e discutir quais medidas de controle e melhorias que poderiam ser implantadas, com base nos resultados obtidos e visando à adequação à legislação vigente.

Foi elaborado um relatório específico para cada escola. Os relatórios foram entregues em encontro onde foi exposta a legislação referente às boas práticas e os resultados gerais da pesquisa, preservando sempre a particularidade de cada escola. Compareceram 55 diretores ou representantes do total de 100 escolas estaduais. Todas as escolas que apresentaram resultados não conformes participaram. Aos diretores que não puderam comparecer foi enviado o relatório da escola através da Coordenadoria Regional de Educação de Porto Alegre. O mesmo ocorreu na rede municipal, porém os relatórios foram entregues às nutricionistas e técnicas de nutrição, totalizando 38 responsáveis.

Posteriormente, este estudo foi expandido para o estado do Rio Grande do Sul. Foram selecionados os municípios com a maior densidade demográfica das sete mesorregiões do estado (Pelotas, Bagé, Santa Cruz do Sul, Santa Maria, Caxias do Sul, Passo Fundo e Porto Alegre), e utilizou-se a mesma metodologia aplicada da cidade de Porto Alegre.

Além disso, o CECANE/UFRGS está conduzindo pesquisa sobre filtros de água de diferentes modelos que possam ser aplicados em escolas, verificando sua eficiência na eliminação de *Cryptosporidium spp.*

Do mesmo modo, foi desenvolvido pelo CECANE/UFRGS um curso destinado aos nutricionistas que atuam no PNAE, tendo como objetivo uma

atualização sobre Boas Práticas na Alimentação Escolar e a sua instrumentalização para a elaboração de manual de boas práticas para as escolas dos municípios. Até o presente momento, foram oferecidas dez turmas de atualização e participaram do curso 374 nutricionistas, de 352 municípios e da Secretaria Estadual de Educação do Rio Grande do Sul.

Espera-se que a continuidade das atividades do CECANE/UFRGS possa contribuir para a melhoria da alimentação oferecida nas escolas públicas do estado.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, R. D. Biology of *Giardia lamblia*. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 14, p. 447–475, 2001.

ALCOBA-FLÓREZ, J. et al. Outbreak of *Shigella sonnei* in a rural hotel in La Gomera, Canary Islands. **Spain International Microbiology.** n. 8, p. 133–136, 2005.

ALMEIDA, C.G. et al. Giardíase em crianças e cães do mesmo domicílio e de bairros periféricos de Lages, Santa Catarina **Revista Ciência & Saúde**, v.3, n.1, p.9-13, 2010.

ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos.** São Paulo: Varela, 2008. 412p.

APHA – American Public Health Association, Standard Methods for de Examination of Water and Wastewater, 18th edn., 1992. **American Public Health Association**, Washington, DC.

APPELBEE, A. J.; THOMPSON, R. C. A.; OLSON, M. E. *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – Current status and future needs. **Trends. Parasitol.** v. 21, n. 8, p. 370–376, 2005.

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

BAJER, A. *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. infections in humans, animals and the environment in Poland. **Parasitol Res.** v. 104, p.1–17, 2008.

BARTZ, S.; RITTER, A.C.; TONDO, E. C. Evaluation of bacterial multiplication in cleaning cloths containing different quantities of organic matter. **Infect Dev Ctries.** v. 4, n. 9, p. 566–571, 2010.

BERGER, C. N. et al. Interaction of Salmonella enteric with basil and other salad leaves. **International Society for Microbial Ecology**. v. 3, p. 261–265, 2009.

BEVILACQUIA, P. D.; AZEVEDO, S.M.F.O.; CERQUEIRA, A. C. **Microrganismos Emergentes: Protozoários e Cianobactérias**. IN: PÁDUA, V.L. Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano. Rio de Janeiro: Abes, 2009. 392p.

BORGES, J. C. G. et al. Ocorrência de oocistos de Cryptosporidium spp. na água destinada a manutenção dos peixes-boi marinhos (*Trichechus manatus*) em cativeiro. **Biotemas**, v. 20, p. 67–74, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução: RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 10 jan 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 jun 2009.

BRASIL. II Conferência Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional: **A construção da Política Nacional de Segurança Alimentar. Relatório final**. maio 2004a. Disponível em: <<http://www.fomezero.gov.br>>. Acesso em: 20 abr 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução: RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004b**. Brasília, 2004b. Dispõe sobre: Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 nov 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria MS nº 518 de 25 de março de 2004c**. Aprova: Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano. Diário Oficial da União, Distrito Federal, 26 mar 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 dez 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dez Passos para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas**. Brasília, 2004d. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/nutricao/documentos/dez_passos_pas_escolas.pdf> Acesso em: 20 set. 2009.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 2ª ed. rev. - Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006a. 146 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Inspeção sanitária em abastecimento de água** / Brasília, 2006b. Disponível em:

<http://portaldasaude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_inspecao_sanitaria.pdf
> Acesso em: 03 dez 2009.

BRASIL. Portaria Interministerial Nº 1.010, de 8 de maio de 2006c. Institui as diretrizes para a Promoção da Alimentação Saudável nas Escolas de educação infantil, fundamental e nível médio das redes públicas e privadas, em âmbito nacional. **Diário Oficial da União**, Distrito Federal, 09 mai 2006. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2006/GM/GM-1010.htm>
> Acesso em: 03 dez 2009.

BRASIL, Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação – FNDE. **Alimentação Escolar**. 2010. Disponível em: <http://www.fnde.gov.br/index.php/programas-alimentacao-escolar>> Acesso em: 05 mar 2010.

CACCIÒ, S.M. et al. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends. Parasitol.** v. 21, n. 9, p. 430–436, 2005.

CASTRO, A.Z. et al. Levantamento das Parasitoses Intestinais em Escolares da Rede Pública na Cidade de Cachoeiro de Itapemirim – ES. **NewsLab** – Ed. 63, 2004.

CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 1998-2002**. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm#top>
>. Acesso em: 20 jan 2010.

CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **FoodNet 2007 Surveillance Report**. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2009.

COSTA, P. D. et al., ATP-Bioluminescence assay as an alternative for hygiene-monitoring procedures of stainless steel milk contact surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**. n. 37, p. 345–349, 2006.

COSTALUNGA, S.; TONDO E.C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, 1997 a 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 33, p. 342–346, 2002.

CRUZ, A. G.; CENCI, S. A.; MAIA, M. C. A. Pré-requisitos para implementação do sistema APPCC em uma linha de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 26, n. 1, p. 104–109, 2006.

DANIELS, N. A. et al. Foodborne disease outbreaks in United States schools. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, n. 21, p. 623–628, 2002.

DAWSON D. Foodborne protozoan parasites. **International Journal of Food Microbiology**. v. 103, p. 207–227, 2005.

DIAZ, J. C.; ALVAREZ, C. R.; LÓPEZ, A. S. Estudio Microbiológico de las comidas servidas em los comedores escolares de la isla de Tenerife. **Revista Salud Publica**. v. 6, p. 749–760, 2003.

DILLINGHAM, R. A.; LIMA, A. A.; GUERRANT, R. L. Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. **Microbes Infect**. n. 4, p. 1059–1066, 2002.

FARIAS, E. W. C.; GAMBA, R. C; PELLIZARI, V. H. Detection of *Cryptosporidium* spp. oocysts in raw sewage and creek water in the city of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. n. 33, p. 41–43, 2002.

FAYER, R.; MORGAN, U.; UPTON S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**. v. 30, p. 1305–322, 2000.

FORSYTHE, S. J. **Microbiology of Safe Food**. 2 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010.

FREITAS, M. C. S.; PENA, P. G. L. Segurança alimentar e nutricional: a produção do conhecimento com ênfase nos aspectos da cultura. **Revista de Nutrição**. v. 20, n. 1, p. 69–81, 2007.

FULLÁ, N., et al. Surveillance for antimicrobial resistance profiles among *Shigella* species isolated from a semirural community in the northern administrative area of Santiago, Chile. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 6, p. 851–854, 2005.

GAMBA, R. C. et al. Detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in groundwater for human consumption in Itaquaquecetuba city, S. Paulo-Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. n. 31, p. 151–153, 2000.

GELLI, I. A. et al., Condições higiênico-sanitárias no pré-preparo de carne bovina em restaurante universitário de Uberlândia, MG. **Higiene Alimentar**. v. 19, p. 27-30, 2005.

GENTIL, C. L.; SYLLA Y.; FAILLE, C. Bacterial re-contamination of surfaces of food processing lines during cleaning in place procedures. **Journal of Food Engineering**. v. 96, p. 37–42, 2010

GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003 e 2007 (Nº. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**. v. 161, p. 26–29, 2010.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution, **International Journal of Food Microbiology**. n. 130, p. 77–87, 2009.

- GRIFFITH, C. J. et al. An evaluation of hospital cleaning regimes and standards. **Journal of Hospital Infection**. v. 45, p. 19–28, 2000.
- HUANG, D. B; WHITE, A. C. An Updated Review on Cryptosporidium and Giardia. **Gastroenterol Clin N Am**. v. 35, p. 291–314, 2006.
- HUANG, I. et al., Outbreak of Dysentery Associated with Ceftriaxone-Resistant *Shigella sonnei*: First Report of Plasmid-Mediated CMY-2-Type AmpC β -Lactamase Resistance in *S. sonnei*. **Journal of Clinical Microbiology**. p. 2608–2612, 2005.
- HUGHES, C. et al. Foodborne transmission of infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–2003. **Food Control**. n. 18, p. 766–772, 2007.
- ILSI – INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE. Food safety objectives - Role in microbiological food safety management **Food Control**, n. 16, p. 775–794, 2005.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6^a. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.
- JORGENSEN, H. J. et al. Enterotoxigenic *S. aureus* in bulk Milk in Norway. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 1, p. 158–166, 2005.
- KAKU, M. et al., Surto alimentar por *Salmonella Enteritidis* no Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. n. 29, p. 127–131, 1995.
- KARANIS, P.; KOURENTI, K.; SMITH, H. V. Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lesson learnt. **Journal Water Health**. v. 5, n. 1, p. 1-38, 2007.
- LEAL, D. A. G.; FRANCO, R. M. B. Moluscos bivalves destinados ao consumo humano como vetores de protozoários patogênicos: Metodologias de detecção e normas de controle. **Rev. Panam. Infectol**. v. 10, p. 48–57, 2008.
- LECLERC, H., SCHWARTZBROD, L., DIE-CAS, E. Microbial agents associated with waterborne diseases. **Crit. Rev. Microbiol**. v. 28, p. 371–409, 2002.
- LEVINE, N. D. et al. A newly revised classification of the protozoa. **J. Protozool**. v. 27, p. 37–58, 1980.
- LEWIS, T. et al., A modified ATP benchmark for evaluating the cleaning of some hospital environmental surfaces, **Journal of Hospital Infection**, n. 69, p. 156–163, 2008.
- LOIR, Y. L.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning **Genetics and Molecular Research**. n. 2, p. 63–76, 2003.

MACKENZIE, W. R. et al. Massive outbreak of waterborne *cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. **Clin Infect Dis**, n. 21, p. 57–62, 1995.

MALUF, S. J. M. **Segurança alimentar e nutricional**. Editora vozes. Petrópolis - RJ. 2007. 174p.

McMULLAN, R. et al. Travel Food-poisoning and commercial air travel. **Medicine and Infectious Disease**. n. 5, p. 276–286, 2007.

MESQUITA, M. O. et al. Qualidade Microbiológica no Processamento do Frango Assado em Unidade de Alimentação e Nutrição. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 26, p. 198–203, 2006.

MICHELIN, A. de F.; CARMO, L. S. do; CARLOS, I. Z. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigui, São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. n. 65, p. 46–49, 2006.

MICHINO, H.; OTSUKI, K. Risk Factors in Causing Outbreaks of Food-Borne Illness Originating in School Lunch Facilities in Japan, **J. Vet. Med. Sci**. n. 62, p. 557–60, 2000.

MORENO, L. S. **Higiene de lá alimentación**. Barcelona: Editora Aedos, 1982. 250p.

MORGAN, U. N. et al. *Cryptosporidium* spp. In domestic dog: the “Dog” genotype. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 66, p. 2220–2223, 2000.

MUCH, P.; PICHLER, J.; ALLERBERGER, F. Foodborne infectious outbreaks, Austria 2005. **Wien Klin Wochenschr**. n. 119, p. 150–157, 2007.

NOWOSAD, P. et al., The use of rotifers in detecting protozoan parasite infections in recreational lakes. **Aquat Ecol**. v. 41, p. 47–54, 2007.

NORMANNO, G. et al. Coagulase positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **Int. J. Food Microbiol**. v. 98, p. 73–79, 2005.

NORMANNO, G. et al. Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. **Int. J. Food Microbiol**. v. 115, p. 290–296, 2007.

OLIVEIRA, F. A. de et al. Clonal relationship among *Salmonella enterica* serovar Enteritidis involved in foodborne outbreaks in Southern Brazil. **Food Control**. n. 20, p. 606–610, 2009.

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde, Representação Sanitária Pan-Americana, **Escritório Regional da Organização Mundial da Saúde**, Água e Saúde, 30/05/2001.

ORTEGA, Y. R.; ADAM, R. D.; *Giardia*: overview and update. **Clin. Infect. Dis.** v. 25, p. 545–549, 1997.

PAKALNISKIENE, J. et al. A foodborne outbreak of enterotoxigenic *E. coli* and *Salmonella Anatum* infection after a high-school dinner in Denmark, November 2006, **Epidemiol. Infect.** n. 137, p. 396–401, 2009.

PENATTI, M. P. A. et al. Epidemiological characterization of resistance and PCR typing of *Shigella flexneri* and *Shigella sonnei* strains isolated from bacillary dysentery cases in Southeast Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** v. 40, p. 249–258, 2007.

PIRES, A. C. dos S. et al. Condições higiênicas de fatiadores de frios avaliadas por ATP-bioluminescência e contagem microbiana: sugestão de higienização conforme RDC 275 da ANVISA. **Alim. Nutr.** v. 16, n. 2, p. 123–129, 2005.

RICHTER, C. A. **Água: Métodos e tecnologia de tratamento.** 1ª. ed. São Paulo: Blucher, 2009. 340 p.

RS – RIO GRANDE DO SUL. Portaria SES/RS n. 78, de 30 de janeiro de 2009. Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, aprova Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul.** Secretaria da Saúde, Porto Alegre, RS. 1ª Edição, p. 35–40.

ROBERTSON, L. et al. Application of genotyping during an extensive Outbreak of Waterborne Giardiasis in Bergen, Norway, during autumn and winter 2004. **Appl. Environ. Microbiol.** n. 72, p. 2212–2217, 2006.

RODRIGUES, M. M. et al. Indícios de *Rotavirus* na etiologia de um surto de infecção de origem alimentar. **Ciência Tecnol Alim.** n. 24, p. 88–93, 2004.

ROMANI, C. et al. Reinterpreting a community outbreak of *Salmonella enteric* serotype Enteritidis in the light of molecular typing. **BMC Public Health,** v. 7, n. 237, 2007.

ROSE, J. B.; HUFFMAN, D. E.; GENNACCARO, A. Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. **FEMS Microbiol Rev.** n. 26, p. 113–123, 2002.

SANT'ANA, A. S. et al. Qualidade microbiológica de águas minerais. **Cienc. Tecnol. Aliment.** v. 23, p. 190–194, 2003.

SÃO PAULO – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, **Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE,** 2002. Disponível em:

<<http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/Giardiose.htm>> Acesso em: 10 mar 2010.

SÃO PAULO – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, **Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE**, março 2003. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/Shigella.htm>> Acesso em: 10 mar 2010.

SÃO PAULO, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, **Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE**, Doenças Transmitidas por Alimentos, Estado de São Paulo. 1999-2008. Trabalho apresentado no III Seminário WHO Global Salmonella Surveillance, 29/09 a 03/10/2008, Brasília, DF, Brasil. set. 2008. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/hidri_vdtaa.htm> Acesso em: 10 mar 2010.

SÃO PAULO, CETESP, **Água: Variáveis de qualidade da água. Variáveis microbiológicas.** 2010. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/variaveis.asp>> Acesso em: 21 jan 2010

SAQUET, A. A. Use of Bioluminescence for the Analysis of ATP, ADP and AMP in Fruits. **Braz. J. Food Technol.**, v. 8, n. 4, p. 326–334, 2005.

SAVADKOOHI, R. B.; KACHO, A. M. Prevalence of *Shigella* Species and their antimicrobial resistance Patterns at Amirkola Children's Hospital, North of Iran. **Iran Journal Pediatric**. v. 17, n. 2, p. 118–122, 2007.

SCHMID, D. et al. Outbreak of acute gastroenteritis in an Austrian boarding school, September 2006. **Eurosurveillance**. v. 12, p. 29–40, 2007.

SHELOBOLINA, E. S. et al., Isolation, Characterization, and U(VI)-Reducing Potential of a Facultatively Anaerobic, Acid-Resistant Bacterium from Low-pH, Nitrate- and U(VI)-Contaminated Subsurface Sediment and Description of *Salmonella subterranea* sp. nov. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 2959–2965, 2004.

SHERLOCK, O. et al. Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness. **Journal of Hospital Infection**. v. 72, n. 2, p. 140–146, 2009.

SILVA JR., E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação**. Ed Varela, 6ª. edição. São Paulo, 2008. 479 p.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise de alimentos**. 3ed. São Paulo: Varela. 2007. 544 p.

SMITH, H. V. et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. **Veterinary Parasitology**. n. 149, p. 29–40, 2007.

SODRÉ, F. C. & FRANCO R. M. B. Novos aspectos sobre um tema bem conhecido: *Cryptosporidium*. **Rev Brás An Clin.** v. 33, p. 97–107, 2001.

SOUZA, E. L.; SOUSA C. P. Qualidade Sanitária de Equipamentos, Superfícies, Água e Mãos de Manipuladores de Alguns Estabelecimentos que Comercializam Alimentos na cidade de João Pessoa, PB. **Higiene Alimentar.** São Paulo. v. 18, p. 98–102, 2004.

TAUXE, R. V. Emerging foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology.** n. 78, p. 31–41, 2002.

THOMPSON, R. C. A. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. **Vet. Parasitol.** v. 126, p. 15–35, 2004.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION. **Method 1623: Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA.** 2005 Disponível em: <http://www.epa.gov/microbes>>. Acesso em: 24 mai 2010.

WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvido em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. de Biociências.** v. 8, n. 1, 2010.

XIAO, L., RYAN, U. M. *Cryptosporidium*: an update in molecular. **Epidemiology. Curr. Opin infect. Dis.** v. 17, p. 483–490, 2004.

9 ANEXO

9.1 ANEXO 1 - Lista de verificação em boas práticas para unidades de alimentação e nutrição escolares



Ministério
da Educação



SÃO PAULO

2008

LISTA DE VERIFICAÇÃO EM BOAS PRÁTICAS PARA UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO ESCOLARES

Considera-se:

NA = Não se aplica

EDIFÍCIOS E INSTALAÇÕES DA ÁREA DE PREPARO DE ALIMENTOS			
	Sim	Não	NA
Localização da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN)			
- os arredores oferecem condições gerais de higiene e sanidade, evitando riscos de contaminação? E essa área é ausente de lixo, objetos em desuso, animais, insetos e roedores?	2	0	2
Piso da área de produção			
- apresenta-se em bom estado de conservação ¹ e permite o não acúmulo de sujidades e água? ¹ Íntegro, sem presença de: sujidades, rachaduras, bolor e descolamento.	1	0	1
- os ralos são de fácil limpeza, dotados de mecanismos de fechamento, possuindo grelhas com proteção telada ou outro dispositivo que impeça a entrada de roedores e de baratas? (Nota: As canaletas devem obedecer os mesmos critérios)	1	0	1
- é impermeável, lavável e de fácil higienização (lavagem e desinfecção)?	1	0	1
Paredes e divisórias da área de produção			
- as paredes e divisórias são de cores claras, constituídas de material e acabamento lisos, impermeáveis, laváveis e em bom estado de conservação ² ? ² Sem presença de: bolor, umidade, descascamento, descolamento e rachaduras.	1	0	1
Forros e tetos da área de produção			
- apresentam acabamento liso, impermeável, lavável, de cor clara e em bom estado de conservação ³ ? ³ sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1
Portas e janelas da área de produção			
- as portas são de cores claras, constituídas de superfícies lisas, não absorventes de fácil limpeza, e dotadas de fechamento automático, molas ou sistema similar?	1	0	1
- possuem proteção nas aberturas inferiores para impedir a entrada de insetos e roedores?	2	0	2

- as janelas apresentam superfícies lisas, laváveis e em bom estado de conservação ⁵ ? ⁵ sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1
- as portas apresentam-se em bom estado de conservação ⁶ e perfeitamente ajustadas aos batentes? sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1
- quando usadas para ventilação, são dotadas de telas milimétricas ⁷ facilmente removíveis para limpeza e mantidas em bom estado de conservação ⁸ ? ⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios. ⁸ Sem a presença de: furos, acúmulo de sujidades e gordura, descolamento da borda	2	0	2
Iluminação da área de produção			
- quando posicionadas sobre áreas de manipulação de alimentos, as lâmpadas são dotadas de sistema de segurança contra quedas acidentais?	2	0	2
- a iluminação é uniforme sem cantos escuros?	1	0	1
Ventilação da área de produção			
- é garantida a inexistência de ventiladores e/ou aparelhos de ar condicionado nas áreas de manipulação?	2	0	2
Abastecimento de água			
- a água é ligada à rede pública ou à rede alternativa com sua potabilidade atestada por laudos?	8	0	8
- há presença de reservatório de água? Está isento de rachaduras, infiltração e vazamentos, dotado de tampa e lavado a cada 6 meses?	8	0	8
Sanitários e vestiários			
É de uso exclusivo de funcionários e apresentam-se em bom estado de conservação ⁹ ? Sem a presença de: vazamentos, sujidades, acúmulo de água no chão, rachaduras em paredes e vasos, bolor e umidade em portas, paredes e forro.	1	0	1
- são conectados à rede de esgoto ou a fossa asséptica esvaziada periodicamente?	2	0	2
- os banheiros são constituídos de vasos sanitários com tampa e descarga eficiente?	2	0	2
- são providos de água corrente?	4	0	4
são dotados de pia para lavagem de mãos, sabão e papel descartável para secagem e com lixeira para descarte de papel, em bom estado de conservação ¹⁰ ? ¹⁰ Sem a presença de: rachaduras e sujidades.	4	0	4
Lavatórios exclusivos para higiene das mãos			

- possuem sabão adequado: líquido e inodoro, anti-séptico, papel toalha não reciclado ou outro sistema adequado para secagem de mãos, torneiras e lixeiras com tampa, ambas com acionamento NÃO manual?	4	0	4
- são dotados de água corrente?	4	0	4
- nas pias destinadas para manipulação e/ou preparo de alimentos, é garantida a ausência de sabão e/ou anti-séptico para higiene das mãos?	4	0	4
Áreas de armazenamento em temperatura ambiente			
- são dotadas de portas com fechamento automático (mola ou similar) e proteção contra roedores na abertura inferior?	1	0	1
- têm janelas e qualquer aberturas protegidas com telas milimétricas ⁷ ? ⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios.	1	0	1
- são dotadas de estrados fixos ou móveis que permitam fácil acesso para a higienização ¹¹ ? ¹¹ Estrados móveis, com abertura mínima de 25cm do chão e distância de 10cm entre as pilhas	1	0	1
- os alimentos estão dispostos em prateleiras/ extremidades de forma que permita a circulação de ar entre as pilhas?	1	0	1
- as prateleiras são laváveis e impermeáveis?	1	0	1
Área de consumação/refeitório/salão de refeições			
- é dotada de forro, piso e paredes de material liso, lavável e impermeável?	1	0	1
- tem janelas e aberturas protegidas com telas milimétricas ⁷ removíveis? ⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios.	1	0	1
- é ausente de ventiladores com fluxo de ar direto sobre plantas e/ou alimentos?	2	0	2
- as plantas, se existentes, são dispostas de forma a não contaminar os alimentos durante a distribuição? Quando adubadas, usa-se adubo inorgânico?	2	0	2
Área para depósito e higienização do material de limpeza			
é exclusiva e isolada das áreas de manipulação de alimentos?	4	0	4

Totais TS1 () TNA1 ()

NA: Não se aplica

PB1: pontuação do bloco 1

TS1: somatória das notas sim obtidas

TNA1: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K1: 75 (constante do bloco 1)

P1: 10 (peso do bloco)

$$PB1 = \frac{TS1}{K1 - TNA1} \times P1 \quad PB1 = \frac{()}{75 - ()} \times 10 \quad PB1 = ()$$

EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS			
	Sim	Não	NA
Áreas de armazenamento em temperatura controlada			
- possui geladeiras ou câmaras em número suficiente e que mantenha os alimentos em temperatura segura?	4	0	4
- possui freezers (congeladores) em número suficiente para manter a temperatura congelada?	8	0	8
- A escola possui termômetro aferido?	8	0	8
-geladeira e/ou câmaras e/ou freezers apresentam-se em bom estado de funcionamento, higiene e manutenção constante?	8	0	8
- o balcão quente, para a distribuição, é regulado de forma a manter os alimentos a no mínimo 60 °C?	8	0	8
- as câmaras e/ou refrigeradores são regulados de modo a manter os alimentos nas temperaturas:			
- até 4°C para carnes, aves e pescados refrigeradas?	8	0	8
- até 4°C para alimentos pré-preparados ou pós cocção por no máximo 3 (três) dias?	8	0	8
- o freezer é regulado, garantindo aos alimentos temperaturas entre -12°C a 18°C?	8	0	8
- nos equipamentos de refrigeração e congelamento são ausentes o acúmulo de gelo e obstrução nos difusores de ar?	8	0	8

Totais TS2 () TNA2 ()

NA: Não se aplica

PB2: pontuação do bloco 2

TS2: somatória das notas sim obtidas

TNA2: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K2: 68 (constante do bloco 2)

P2: 15 (peso do bloco)

$$PB2 = \frac{TS2}{K2 - TNA2} \times P2 \quad PB2 = \frac{()}{68 - ()} \times 15 \quad PB2 = ()$$

MANIPULADORES			
	Sim	Não	NA
- todos os funcionários estão uniformizados ¹² ? ¹² Uniforme limpo, com proteção para os cabelos, com sapatos fechados.	2	0	2
- exames médicos são renovados periodicamente ou pelo menos uma vez por ano?	4	0	4
- os manipuladores trabalham sem afecções clínicas ¹³ ? ¹³ Feridas, micoses, sangramentos, coriza, infecções respiratórias.	4	0	4
- há ausência de adornos ¹⁴ ? ¹⁴ Brincos, pulseiras, alianças, relógios, colares, anel, <i>piercings</i> .	2	0	2
- garante-se a ausência de barba?	2	0	2
- os cabelos são totalmente protegidos?	4	0	4
- o candidato ao emprego só é admitido após a realização de exames médicos e laboratoriais?	4	0	4
- todas as pessoas envolvidas na UAN (Unidade de Alimentação e Nutrição) participaram de capacitação envolvendo Segurança de Alimentos?	4	0	4

Totais TS3 () TNA3 ()

NA: Não se aplica

PB3: pontuação do bloco 3

TS3: somatória das notas sim obtidas

TNA3: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K3: 26 (constante do bloco 3)

P3: 25 (peso do bloco)

$$PB3 = \frac{TS3}{K3 - TNA3} \times P3 \quad PB3 = \frac{()}{26 - ()} \times 25 \quad PB3 = ()$$

FORNECEDOR			
	Sim	Não	NA
Transporte de matéria-prima			
No recebimento são verificadas as características dos alimentos como: aparência geral, cor, odor e consistência?	4	0	4
É verificada a integridade das embalagens dos alimentos no momento do recebimento?	8	0	8

- os produtos reprovados são devolvidos no ato do recebimento ou segregados e identificados para providências posteriores?	2	0	2
- é verificado o prazo de validade nos rótulos dos alimentos no momento do recebimento?	8	0	8

Totais TS4 () TNA4 ()

NA: Não se aplica

PB4: pontuação do bloco 4

TS4: somatória das notas sim obtidas

TNA4: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K4: 22 (constante do bloco 4)

P4: 10 (peso do bloco)

$$PB4 = \frac{TS4}{K4 - TNA4} \times P4 \quad PB4 = \frac{()}{22 - ()} \times 10 \quad PB4 = ()$$

PROCESSOS E PRODUÇÕES			
	Sim	Não	NA
Higiene das mãos			
- os funcionários higienizam as mãos seguindo procedimento adequado e utilizando produtos recomendados para lavagem e desinfecção? umedecer as mãos e antebraços com água; lavar com sabonete líquido, neutro, inodoro; enxaguar bem as mãos e antebraços; secar as mãos com papel toalha descartável não reciclado ou qualquer outro método de secagem que não permita a recontaminação das mãos; aplicar anti-séptico, deixando secar naturalmente; os anti-sépticos utilizados, devem ter registro no MS para esta finalidade; pode ser utilizado sabonete líquido anti-séptico; neste caso, massagear as mãos e antebraços durante o tempo recomendado pelo fabricante.	8	0	8
Recebimento de matéria-prima			
- as caixas de papelão e/ou madeira são substituídas por monoblocos limpos ou sacos plásticos apropriados toda vez que há risco de contaminação?	2	0	2
Armazenamento de matéria-prima (embalagens fechadas)			
- há inexistência de produtos com validade vencida?	4	0	4

- o empilhamento de sacarias é feito de forma alinhada, não prejudicando o produto, respeitando empilhamento máximo recomendado pelo fornecedor?	2	0	2
- a ausência de caixas de papelão em áreas de armazenamento sob ar frio é respeitada? (exceto quando a área é específica para este fim)	4	0	4
- a retirada de produtos do estoque obedece ao sistema PEPS (Primeiro que entra é o primeiro que sai) ou PVPS (Primeiro que vence é o primeiro que sai)?	4	0	4
Armazenamento Pós-manipulação			
- os diferentes gêneros alimentícios, quando são armazenados em um único equipamento de refrigeração, estão dispostos de forma adequada (separados entre si e dos demais)?	4	0	4
As etiquetas contêm: nome do produto, prazo de validade de acordo com a rotulagem original e prazo de utilização de acordo com os critérios de uso?	2	0	2
- os alimentos prontos são colocados nas prateleiras superiores?	4	0	4
- os semi-prontos e/ou pré-preparados nas prateleiras do meio?	4	0	4
- e o restante dos alimentos, crus e outros, nas prateleiras inferiores?	4	0	4
- as portas dos equipamentos de refrigeração são mantidas fechadas?	4	0	4
Procedimentos de alimentos na preparação			
- as verduras, os legumes e as frutas que serão ingeridos crus e que serão ingeridos com casca são desinfetados de forma adequada, isto é, imersos em solução clorada (200 a 250 ppm) por 15 minutos, com enxágüe posterior em água potável?	8	0	8
- as frutas manipuladas, verduras e os legumes não desinfetados são submetidos à cocção (70°C no seu interior) ou permanecem imersas em fervura por no mínimo 1 minuto?	8	0	8
Processo de descongelamento			
- o descongelamento é feito sob refrigeração a 5°C ou forno de convecção ou microondas?	8	0	8
Controles e Registros			
- Existe Manual de Boas Praticas na escola, de acesso aos manipuladores de alimento?	8	0	8
Há registro e controle de temperatura:			
- dos produtos no ato do recebimento?	8	0	8
- dos alimentos ou preparações durante a produção?	8	0	8
- dos alimentos ou preparações durante a distribuição?	8	0	8
- Existe na escola documento que comprove a potabilidade da água?	8	0	8
Processo de dessalgue			
- o dessalgue é realizado sob condições seguras? ¹⁵ ¹⁵ trocas de água a cada 4 h ou em água sob refrigeração ou por	8	0	8

meio de fervura			
Procedimentos para cocção e reaquecimento			
- carnes, aves e peixes são cozidos completamente? (carnes e aves atingem a cor cinza?)	8	0	8
Procedimentos para distribuição			
- os alimentos na distribuição não ultrapassam duas horas a partir do término do preparo até distribuição?	8	0	8
Procedimentos para Utilização de Sobras			
- os alimentos preparados obedecem a uma programação de quantidades com o objetivo de não ocorrerem sobras?	4	0	4
Cuidados com ovos			
- é inexistente a utilização de ovos crus no preparo de pratos não submetidos à cocção ?	8	0	8
- ovos cozidos, ou utilizados em preparações, passam por processo de cocção adequado? (clara e gema duras)	8	0	8

Totais TS5 () TNA5 ()

NA: Não se aplica

PB5: pontuação do bloco 5

TS5: somatória das notas sim obtidas

TNA5: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K5: 146 (constante do bloco 5)

P5: 30 (peso do bloco)

$$PB5 = \frac{TS5}{K5 - TNA5} \times P5 \quad PB5 = \frac{()}{146 - ()} \times 30 \quad PB5 = ()$$

HIGIENIZAÇÃO AMBIENTAL			
	Sim	Não	NA
Lixo/Esgotamento sanitário			
- o lixo é disposto adequadamente em recipientes constituídos de material de fácil limpeza, revestidos com sacos plásticos e tampados?	2	0	2
- a área de lixo externo é isolada ou tratada de forma a evitar contaminação?	2	0	2
Higiene das Instalações			
- o lixo é retirado diariamente e sempre que necessário?	2	0	2

- a higiene ambiental é mantida por meio de adequadas e aprovadas ¹⁶ técnicas de limpeza, enxágüe e desinfecção? É realizado por meio de água e sabão? ¹⁶ Utilizando água, sabão, desinfetante por 15 minutos e enxágüe, ou utilizar desinfecção por calor (água quente) por 15 minutos	4	0	4
- são utilizadas escovas e esponjas de material não abrasivo, as quais são constituídas de fibras que não se desprendem com o uso?	4	0	4
- os produtos de limpeza e desinfecção utilizados são registrados no Ministério da Saúde?	4	0	4
- os utensílios de limpeza (panos, rodos e etc.) que são usados nas áreas de manipulação e processamento são diferenciados dos panos de limpeza de sanitários?	4	0	4
- nas áreas de manipulação e processamento, é inexistente a prática de varrer o piso a seco?	2	0	2
- quando são utilizados rodos para secar superfícies que entram em contato com alimentos, estes são exclusivos, não destinados para outros fins?	2	0	2
Higiene de utensílios/equipamentos/outros materiais			
- os produtos utilizados para limpeza e desinfecção são registrados no Ministério da Saúde?	4	0	4
- a desinfecção química de utensílios e equipamentos é feita de forma adequada ¹⁶ ? ¹⁶ com solução clorada entre 100 a 250 ppm, com tempo mínimo de contato de 15 minutos e adequado enxágüe final. E/ou com álcool 70% pelo tempo suficiente para secar naturalmente e sem enxágüe final? E/ou a desinfecção é pelo calor? (15 minutos de imersão em água fervente, no mínimo a 80°C, sem necessidade de enxágüe)	8	0	8
- são protegidos contra poeira, insetos e roedores? São guardados sob proteção?	4	0	4
- as bancadas e mesas de apoio são higienizadas após o retorno ao trabalho e/ou troca de turno?	4	0	4
- os utensílios e equipamentos são secos naturalmente ou sem a utilização de panos?	2	0	2
Controle de Pragas			
- é feito controle de pragas por empresa terceirizada?	8	0	8
- são ausentes as evidências de roedores, baratas e insetos entre as aplicações?	4	0	4

Totais TS6 () TNA6 ()

NA: Não se aplica

PB6: pontuação do bloco 6

TS6: somatória das notas sim obtidas

TNA6: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K6: 60 (constante do bloco 6)

P6: 10 (peso do bloco)

$$PB6 = \frac{TS6}{K6 - TNA6} \times P6 \quad PB6 = \frac{(\quad)}{60 - (\quad)} \times 10 \quad PB6 = (\quad)$$

PONTUAÇÃO DA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO ESCOLAR

PE: pontuação da unidade de alimentação e nutrição escolar

PE: PB1+ PB2+ PB3+ PB4+ PB5+ PB6 = ()

CLASSIFICAÇÃO DA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO ESCOLAR

Classificação	Pontuação (%)
Situação de risco sanitário muito alto	0 a 25
Situação de risco sanitário alto	26 a 50
Situação de risco sanitário regular	51 a 75
Situação de risco sanitário baixo	76 a 90
Situação de risco sanitário muito baixo	91 a 100

Para os subitens foram atribuídos uma nota conforme seu grau de risco: 8 (oito) para os subitens que contemplam condições/situações que permitem a multiplicação de microrganismos, 4 (quatro) para os subitens que contemplam condições/situações que permitem a sobrevivência de microrganismos, 2 (dois) para os subitens que contemplam condições/situações de contaminação cruzada com contato direto com o alimento e 1 (um) para os subitens que contemplam condições/situações de contaminação cruzada sem contato direto com o alimento. Quando o subitem encontrava-se não conforme recebeu a nota 0 (zero). A classificação do risco sanitário e o peso de cada bloco utilizado para

o cálculo foram adaptados a partir da Resolução SS-196 (SÃO PAULO, 1998) e de Danelon e Silva (2005).

Base legal:

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 16 de set. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 275, de 21 de outubro de 2002. Aprova o regulamento técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados e a lista de verificação. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 06 de nov. 2002.

RIO GRANDE DE SUL. Secretaria de Estado de Saúde. Portaria SES/RS 542 de 19 de outubro de 2006. Aprova a lista de verificação em Boas Práticas para serviços de alimentação, aprova normas para cursos de capacitação em Boas Práticas para serviços de alimentação. **Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2006.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde. Portaria CVS 06, de 10 de março de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece os parâmetros e critérios para controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 12 mar. 1999.

SÃO PAULO (Município). Secretaria Municipal de Saúde. Portaria SMS 1210, de 02 de agosto de 2006. Aprova regulamento técnico de boas práticas, que estabelece os critérios e parâmetros para a produção/fabricação, importação, manipulação, fracionamento, armazenamento, distribuição, venda para o

consumo final e transporte de alimentos e bebidas. **Diário Oficial do Município de São Paulo**, São Paulo, 03 de ago. 2006.

SÃO PAULO (Estado). Resolução SS-196, de 29 de dezembro de 98. Apresenta os roteiros e guias de inspeção em Vigilância Sanitária. 1998. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/res196.asp>> Acesso em: 10 de setembro de 2008.

Referência de apoio:

DANELON, M. S.; SILVA, M. V. **Análise das áreas de preparo e consumo de alimentos e perfil socioeconômico dos usuários dos serviços disponíveis nas unidades da rede particular de ensino: subsídios para estratégias de segurança alimentar e nutricional**. Concurso alimentos 2005. São Paulo: ABERC - Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas, 2005.

10. APÊNDICES

10.1 APÊNDICE 1 – Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão

ARTIGO DE REVISÃO

DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS, PRINCIPAIS AGENTES ETIOLÓGICOS E ASPECTOS GERAIS: UMA REVISÃO

FOODBORNE DISEASES, MAIN ETIOLOGIC AGENTS AND GENERAL ASPECTS: A REVIEW

Ana Beatriz Almeida de Oliveira¹, Cheila Minéia Daniel de Paula², Roberta Capalunga³,
Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso⁴, Eduardo Cesar Tondo⁵

RESUMO

Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) compõem um grave problema de saúde pública em nível mundial. A análise crítica e a divulgação dos principais aspectos relacionados das DTA pode ser um importante fator para a prevenção dessas doenças. O presente estudo realizou uma breve revisão sobre as DTA, objetivando contribuir para um melhor entendimento de alguns dos seus principais agentes etiológicos, identificando os alimentos comumente envolvidos nos surtos, os fatores causais mais significativos, assim como as características e impactos sociais relacionados a essas doenças.

Palavras-chave: Doenças transmitidas por alimentos; surtos alimentares

ABSTRACT

Foodborne Diseases (FBD) comprises a serious public health problem worldwide. Critical analysis of the main aspects of FBD may be an important factor for preventing these diseases. This study is a brief review of the FBD in order to provide a better understanding of the main etiologic agents, identifying the foods commonly associated with outbreaks, the most significant causal factors, as well as the characteristics and social impacts related to these diseases.

Keywords: Foodborne diseases; outbreaks

Rev HCPA 2010;30(3):279-285

Características Gerais de Doenças Transmitidas por Alimentos

Existem aproximadamente 250 tipos de doenças alimentares e, dentre elas, muitas são causadas por micro-organismos patogênicos, os quais são responsáveis por sérios problemas de saúde pública e expressivas perdas econômicas. As síndromes, resultantes da ingestão de alimentos contaminados por esses micro-organismos são conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (1,2), Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) ou simplesmente toxinfecções (3).

As DTA podem ser identificadas quando uma ou mais pessoas apresentam sintomas similares, após a ingestão de alimentos contaminados com micro-organismos patogênicos, suas toxinas, substâncias químicas tóxicas ou objetos lesivos, configurando uma fonte comum (1,3). No caso de patógenos altamente virulentos, como *Clostridium (C.) botulinum* e *Escherichia (E.) coli* O157:H7, assume-se que apenas um caso pode ser considerado um surto (1,4,5).

A maioria dos surtos tem sido relacionada à ingestão de alimentos com boa aparência, sabor e odor normais, sem qualquer alteração organoléptica visível. Isso ocorre porque a dose infectante de patógenos alimentares geralmente é menor que a quantidade de micro-organismos

necessária para degradar os alimentos. Esses fatos dificultam a rastreabilidade dos alimentos causadores de surtos, uma vez que os consumidores afetados dificilmente conseguem identificar sensorialmente os alimentos fonte da DTA. Alimentos com características organolépticas alteradas dificilmente causam surtos alimentares, uma vez que não são consumidos devido à sensação repulsiva que causam aos consumidores. Nessas condições, a contaminação microbiana é elevada, muitas vezes ultrapassando números da ordem de 10^8 UFC/g de alimento (6) e o hábito de "provar para ver se está bom" pode ser bastante perigoso.

De acordo com Carmo e colaboradores, (7) os surtos de DTA podem ser investigados através da identificação etiológica laboratorial, exames clínicos, bromatológicos ou por critérios epidemiológicos. Por esses métodos é possível obter conclusões sobre seus agentes etiológicos, veículo, local de ocorrência e demais características pertinentes.

Relatos nacionais e internacionais demonstram que a maioria dos casos de DTA não são notificados às autoridades sanitárias, pois muitos dos patógenos alimentares causam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não busque auxílio médico (6,8,9). Em muitos países, inclusive no Brasil, os surtos notificados, geralmente, se restringem àqueles que envolvem um maior

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Departamento de Medicina Social, Curso de Nutrição- UFRGS; Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE/UFRGS)

2. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS.

3. Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar, CECANE/UFRGS.

4. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFRGS.

5. Departamento de Ciências dos Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ICTA/UFRGS.

Contato: Ana Beatriz de Oliveira. E-mail: ana.beatriz@ufrgs.br (Porto Alegre, RS, Brasil).

número de pessoas ou quando a duração dos sintomas é mais prolongada (7).

Os sintomas mais comuns de DTA incluem dor de estômago, náusea, vômitos, diarreia e, por vezes, febre. Na maioria dos casos, a duração dos sintomas pode variar de poucas horas até mais de cinco dias, dependendo do estado físico do paciente, do tipo de micro-organismo ou toxina ingerida ou suas quantidades no alimento. Conforme o agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser mais grave e prolongado, apresentando desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (6,7,10).

Mesmo que a dificuldade de registro das DTA seja um problema mundial, os relatos oficiais demonstram um aumento significativo de DTA. Entre alguns dos fatores que contribuem para o aumento do registro dessas doenças, pode-se destacar: a) o aumento da população, b) o aumento de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos, c) o processo de urbanização, muitas vezes, desordenado, d) a produção e consumo de alimentos em condições inadequadas, e) o aumento da produção de alimentos e do comércio internacional, f) a melhoria dos sistemas de vigilância epidemiológica e, g) a melhoria dos métodos de diagnóstico e estrutura laboratorial para análises. Além desses fatores, podem ser incluídas outras causas que colaboram de forma menos expressiva para o aumento da ocorrência das DTA, como por exemplo, a utilização de novas modalidades de produção, o aumento no uso de aditivos, mudanças de hábitos alimentares, alterações climáticas e ambientais, a globalização e as facilidades atuais de deslocamento da população, em nível nacional e internacional (11,12).

Boa parte dos surtos alimentares resulta da associação entre o consumo de alimentos contaminados através da manipulação inadequada e conservação ou distribuição em condições impróprias (5). Alimentos contaminados por pequenas quantidades de micro-organismos podem não causar surtos alimentares, porém se forem conservados em condições que permitam a multiplicação desses agentes microbianos, as chances para a ocorrência de surtos aumenta significativamente. Por outro lado, algumas bactérias, como *Listeria (L.) monocytogenes* e *E. coli* O157:H7, apresentam doses infectantes muito baixas, possibilitando que a simples contaminação e a ausência de alguma etapa de processo que elimine esses micro-organismos possa ocasionar surtos (1,13). Os patógenos envolvidos em surtos alimentares podem ser bactérias, parasitos, vírus e fungos micotoxigênicos (1,13,14), sendo que muitos estudos apontam as bactérias como as principais causadoras de DTA (7,15). Outros estudos apontam os vírus como os principais responsáveis por surtos alimentares (6,13), contudo, sem dúvida, a pesqui-

sa desses últimos é menos frequente nos alimentos envolvidos em surtos.

Dados epidemiológicos disponibilizados por órgãos de controle sanitário dos Estados Unidos (EUA) e do Brasil demonstram esses fatos. Por exemplo, dentre os 2.167 surtos registrados, com etiologia conhecida, nos EUA, de 1998 a 2002, 55% foram causados por bactérias, 33% por vírus e 1% por parasitos (1). No Brasil, entre os anos 1999 a 2008, as bactérias foram identificadas como o agente etiológico responsável de 84% dos surtos, enquanto que os vírus foram implicados em 14% do total de casos (16).

Em São Paulo, dentre os surtos alimentares notificados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), no período de 1999 a 2008, 62% foram causados por bactérias, 25% por vírus e 10% por parasitos (17). No Rio Grande do Sul, Estado que conta com um dos mais ativos serviços de vigilância sanitária e epidemiológica do Brasil, foram notificados 3.200 surtos de 1998 a 2006, sendo que a maioria deles foi causada por bactérias, entre elas *Salmonella*, *Staphylococcus (S.) aureus* e coliformes termotolerantes. (7,18).

Principais Agentes Etiológicos Envolvidos em DTA

Os alimentos são veículos através dos quais, muitos micro-organismos causadores de DTA podem chegar a um novo hospedeiro com condições adequadas para colonização (19). Micro-organismos patogênicos podem entrar na cadeia alimentar em diferentes etapas do processo. Como são altamente versáteis, podem se adaptar ao ambiente produtivo, conseguindo sobreviver, multiplicar e/ou produzir compostos tóxicos (20).

Greig e Ravel (5) estudaram as DTA ocorridas nos EUA, Canadá, União Européia (UE), Austrália, Nova Zelândia e outros países. Eles analisaram relatórios publicados de surtos identificados no período entre 1988 e 2007, de fontes governamentais e artigos científicos. No total dos relatórios, foram registrados 4.093 surtos, destes, 70% foram causados por *Salmonella* sp., *Norovirus* e *E. coli*.

Em estudo realizado por Hughes et al., (21) na Inglaterra e País de Gales, onde foi realizado levantamento da ocorrência de surtos de DTA de 1992 a 2003, foi verificado que *Salmonella* spp. foi responsável por mais da metade dos casos (52%) e que *C. perfringens* foi a segunda causa dos surtos (29%). Na Áustria, de um total de 606 surtos alimentares registrados em 2005, 76% foram causados por *Salmonella* spp. e 23% por *Campylobacter* sp. (22).

Michino & Otsuki (23) realizaram uma revisão dos surtos de DTA ocorridos na alimentação escolar, no Japão, de 1987 a 1996, com objetivo de determinar os fatores de risco que provoca-

ram estas manifestações. Nesse trabalho foram estudados 268 surtos. Os micro-organismos mais envolvidos foram *Campylobacter jejuni* (17%), *Salmonella* spp. (16%), *E. coli* (13%) e *Staphylococcus* spp. (12%).

As populações de patógenos que causam DTA de maior importância para a segurança dos alimentos não são estáticas e apesar dos esforços significativos por todas as partes envolvidas, ainda há um número considerável de DTA e novos desafios com os micro-organismos emergentes ou re-emergentes como *E. coli* O157:H7 e *Vibrio (V.) cholerae* (19,20).

Entre os surtos notificados nos EUA, de 1998 a 2002, *Salmonella* Enteritidis (SE) foi o sorotipo responsável pelo maior número de surtos. No entanto, *L. monocytogenes* foi a causa da maioria das mortes (24).

Na França, em 2005, *Salmonella* foi a principal causa de hospitalização e de morte por gastroenterite bacteriana confirmada em laboratório. Por outro lado, a listeriose, apesar de rara, ocupou o segundo lugar como causa de morte por enfermidade de origem alimentar. *Campylobacter* ocupou o segundo lugar nas DTA confirmadas em laboratório, depois da *Salmonella*. Esses dois patógenos, juntos, foram responsáveis por 71-85% de todas as infecções bacterianas de origem alimentar incluídas neste estudo (9).

Em uma análise de artigos em periódicos sobre surtos na China, por contaminação bacteriana, num período de 12 anos (1994 a 2005), foram identificados 1.082 surtos de DTA com 57.612 pessoas infectadas e 51 óbitos notificados. Os agentes etiológicos foram investigados e indicaram que o *V. parahaemolyticus* causou o maior número de surtos (19,5%), seguido por *Salmonella* (17%), *Bacillus (B.) cereus* (13%), *Proteus* (11%) e *S. aureus* (8%). Das 57.612 pessoas infectadas, os agentes etiológicos que causaram o maior número de infecções foram *Salmonella* (22% dos casos), *V. parahaemolyticus* (19%), *Proteus* (12%), *B. cereus* (10%) e casos com mais de uma bactéria envolvida corresponderam a 11% dos casos. *C. botulinum* foi o agente que provocou a maioria das mortes (63%) (25).

No Brasil, o perfil epidemiológico das DTA ainda é pouco conhecido. Somente alguns estados ou municípios dispõem de estatísticas e dados publicados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais frequentemente implicados, população de maior risco e fatores contribuintes. De acordo com os dados disponíveis de surtos, esses apontam como agentes mais frequentes os de origem bacteriana e dentre eles, *Salmonella* spp, *E. coli*, *S. aureus*, *Shigella* spp, *B. cereus* e *C. perfringens* (11).

Com o intuito de obter mais informações a respeito das DTA no Brasil, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), do Ministério da Saúde,

desenvolveu o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA). Esse sistema, implantado em 1999, em parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e o Instituto Pan-Americano de Alimentos, da Organização Pan-Americana de Saúde, visa reduzir a incidência das DTA no Brasil (26).

Dados da SVS a respeito dos surtos registrados, entre 1999 a 2008, demonstraram que 6.062 surtos de DTA foram registrados, com acometimento de 117.330 pessoas (mediana de sete doentes por surto) e 64 óbitos. As regiões Sul e Sudeste notificaram 83% dos surtos de DTA. O Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina foram os Estados que apresentaram maior registro de surtos, o que pode estar relacionado com a melhor implantação do sistema de VE-DTA nos municípios. Foi verificado ainda, que *Salmonella* spp. foi responsável por 1.275 surtos (42%), seguida pelo *S. aureus* responsável por 600 surtos (20%). *B. cereus* foi o terceiro principal agente, sendo responsável por 205 surtos (7%) (16).

Principais Alimentos Envolvidos em Surtos de DTA

Crescimento do comércio internacional e facilidades atuais de deslocamento da população aceleram a disseminação de agentes patogênicos e contaminantes em alimentos, aumentando a nossa vulnerabilidade. Atualmente, o mundo é interligado e interdependente, assim, surtos de DTA locais têm se tornado uma ameaça potencial para o mundo inteiro (27).

Em 1991, uma epidemia de cólera nas Américas, provavelmente com início, na água contaminada e frutos do mar, no Peru, rapidamente se espalhou por toda a América, resultando em aproximadamente 400.000 casos notificados e mais de 4.000 mortes em vários países (28).

Através da globalização, da comercialização e distribuição, alimentos contaminados podem afetar a saúde de pessoas em numerosos países ao mesmo tempo. A identificação de um único ingrediente alimentar contaminado pode levar à retirada de literalmente toneladas de produtos alimentícios, com consideráveis perdas econômicas na produção e embargos nos negócios, bem como danos à indústria turística (27). Sendo assim, os países têm cada vez mais ampliado sua percepção da necessidade e da importância de um sistema de vigilância e da adoção de medidas para garantir a segurança dos alimentos, entre elas a identificação do alimento ou dos alimentos envolvidos em cada DTA (29).

Em 1992, a Sistemática Nacional de Vigilância de Surtos de Doenças Infecciosas Intestinais (DII) foi introduzida na Inglaterra e País de

Gales para fornecer informações completas sobre organismos causadores, fontes ou em veículos de infecção e modos de transmissão. Em um estudo realizado por O'Brien e colaboradores (30) foram comparadas as informações desse sistema com os artigos de revisão publicados na literatura entre 1992 e 2003, a fim de avaliar o efeito potencial de viés de publicação sobre a política de segurança dos alimentos. Durante o período de estudo, 1.763 surtos de DII foram notificados. Cinquenta e cinco artigos foram publicados na literatura, na maioria destes surtos, um único alimento foi relatado como veículo de transmissão. Segundo estes autores, é importante salientar, que em mais de um quarto (27%) dos surtos do sistema de vigilância, os investigadores foram incapazes de identificar um veículo de infecção. Segundo este estudo, as provas da implicação de veículos de infecção de origem alimentar estavam disponíveis para a grande maioria (98%) dos surtos da literatura. Evidência estatística, a partir de um caso-controle, apontou que era mais provável o veículo ser relatado nos surtos da literatura (78%) do que nos surtos registrados no sistema de vigilância (24%). Entre os alimentos mais frequentemente implicados nos surtos relatados, tanto pela literatura quanto pelo sistema de vigilância, destacaram-se o frango, a carne e produtos derivados, sobremesas, leite e produtos lácteos. Além destes, com frequência um pouco menor, estavam saladas, legumes e frutas, ovos e produtos a base de ovos.

Corroborando com este estudo, recentemente, o trabalho de Greig e Ravel (5) também apontou que alimentos com vários ingredientes, como por exemplo, ovos, carne e outros foram os mais envolvidos em DTA. O ovo foi o alimento mais envolvido em surtos de *Salmonella* sp. apontado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA (2009), (24) assim como em diversos estudos já citados como o de Greig e Ravel (5), o de Hughes et al (21) e o de Much et al (22).

Estudo realizado no Japão, que levantou a ocorrência de surtos de DTA, entre 1987 e 1996, os alimentos crus e os parcialmente cozidos, como saladas e produtos com ovos foram envolvidos em 62 surtos (23).

Nos últimos cinco anos, o CDC recebeu uma média de 50 relatos de isolamento de SE a cada semana. Em 2010, durante o final de junho e início de julho, esse número passou para 200 relatos de casos de SE a cada semana. Após a identificação deste aumento no isolamento de SE, o Food and Drug Administration (FDA), CDC e parceiros realizaram uma investigação e observaram que havia dentro os surtos investigados, como ponto em comum, restaurantes ou eventos que receberam ovos de uma única empresa. Desde então, o FDA está realizando uma extensa investigação na empresa, o que envolve

coleta, análise e registros em busca de potencial fonte de contaminação. Em agosto de 2010, a empresa investigada fez o "recall" voluntário de 220 milhões de ovos presentes no mercado, depois do registro de centenas de casos de salmonelose. Alguns dias depois, o FDA ampliou para 380 milhões a devolução de ovos que poderiam estar contaminados com a bactéria, em um dos maiores "recalls" deste produto na história recente (31). Este fato só reforça a importância dos alimentos de origem animal como veículo de contaminação.

No Brasil, segundo dados do Sistema de Vigilância Epidemiológica, no período de 1999 a 2008, de um total de 3.984 surtos investigados, 23 % tiveram como principal alimento envolvido preparações a base de ovos crus e/ou mal cozidos, 17% ocorreram devido ao consumo de alimentos mistos, 12% devido ao consumo de carnes vermelhas, 11% por sobremesas, 9% água, 7% leite e derivados e em 21% dos casos não foi possível identificar o alimento envolvido (16).

Corroborando com esses estudos, Costalunga e Tondo (8) relataram que, no Rio Grande do Sul, *Salmonella* spp. foi responsável por 35,7% dos 323 surtos alimentares investigados no período de 1997 a 1999, sendo a "maionese caseira" o alimento mais envolvido, tanto na forma de saladas (32%), como na forma de coadjuvante de outros alimentos de preparação caseira (2,2%).

Segundo Oliveira, Brandelli e Tondo, (32) no período de 2001 a 2002, dentre os alimentos envolvidos em surtos ocorridos no RS, 30% envolveram preparações a base de ovos.

Locais de Maior Ocorrência de Surtos de DTA

Conforme estudo realizado por Hughes et al (21) o qual investigou o local da ocorrência dos surtos na Inglaterra e País de Gales, foi constatado que a maioria deles ocorreu no comércio de alimentos – cantinas, hotéis, restaurantes e bares – e em locais com produção de alimentos para coletividades, como residências para grupos coletivos, colônias de férias, casas de cuidado e bases militares.

Na Áustria, em 2005, o comércio também foi considerado o primeiro lugar de ocorrência de surtos alimentares, incluindo restaurantes e cafeterias, seguido das festas familiares e depois as creches (22).

Conforme o CVE, no Estado de São Paulo, entre 1999 a 2008, 34% dos surtos por *Salmonella* sp. também ocorreram em restaurantes ou outros serviços de alimentação comerciais e 22% dos surtos ocorreram em residências (17).

No Rio Grande do Sul, em um estudo (8) onde foram analisadas as salmoneloses ocorridas no período de 1997 a 1999, constatou-se que os locais de maior índice de ocorrência fo-

ram as residências (44%), seguidos pelos estabelecimentos comerciais (25%). Resultados semelhantes foram obtidos em outro estudo sobre surtos de DTA ocorridos no RS (15), no qual as residências gaúchas também foram os locais de maior ocorrência de surtos (43%), seguidas de estabelecimentos comerciais (18%) e refeitórios de empresas (14%).

Principais Fatores Causais de Surtos de DTA

Conforme o CDC, (1) os fatores que contribuem para a ocorrência das DTA podem ser agrupados como: a) aqueles que influenciam na contaminação dos alimentos, b) nos que permitem a proliferação dos patógenos e c) nos que permitem a sobrevivência dos patógenos nos alimentos.

O fator de contaminação mais comumente relatado foi o contato da mão do manipulador com o alimento (1). Estudos indicam que uma efetiva lavagem de mãos pode evitar a transmissão das infecções entéricas (13). Num estudo de revisão sobre surtos em escolas dos EUA, de 1973 a 1997, mais da metade (57%) dos surtos alimentares foram atribuídos à contaminação na manipulação, durante o preparo dos alimentos (33).

S. aureus tem sido um micro-organismo freqüentemente envolvido em surtos de toxiose alimentar, estando muito associado à manipulação inadequada dos alimentos, uma vez que é comumente encontrado na pele, mucosas do trato respiratório superior e intestino de humanos (23,34,35). Diversas cepas de *S. aureus* podem produzir enterotoxinas, desde que ocorram condições apropriadas, como por exemplo, temperaturas entre 10 e 46° C. Essas enterotoxinas são termo-resistentes, ou seja, podem resistir aos processos de aquecimento, ao contrário das células bacterianas vegetativas que são eliminadas quando aquecidas acima de 60° C (35,36).

Nos EUA, foi realizado um estudo por Hedberg e colaboradores, (37) sobre o uso de perfis clínicos na investigação de surtos de origem alimentar em restaurantes, ocorridos entre 1982 e 1997, e notificados ao CDC. Segundo estes pesquisadores, as características clínicas dos surtos estão geralmente disponíveis antes dos resultados dos testes de laboratório. No total, 2.246 surtos foram incluídos no estudo: 697 (31%) com etiologia conhecida e 1.549 (69%) com etiologia indeterminada. *Salmonella* representou 65% dos surtos com etiologia conhecida, enquanto o *Norovirus* foi apontado, através do perfil clínico, em 54% dos surtos com etiologia indeterminada. O abuso de tempo em temperaturas inadequadas foi associado com surtos causados por *C. perfringens*, *B. cereus*, *S. aureus* e *Salmonella*, e também com os surtos de etiologia indeterminada com perfis clínicos como

diarréia-toxina e vômitos-toxina. A falta de higiene pessoal foi associada a *Norovirus*, *Shigella* e *Salmonella*. Com este estudo, os pesquisadores concluíram que a rápida categorização do surto por quadro clínico, pode ajudar na identificação dos fatores que contribuíram para a ocorrência dos surtos e promover investigações oportunas e eficientes.

Segundo Pigott, (35) no caso de surtos cujo agente etiológico é o *C. perfringens*, especialmente envolvendo carnes e produtos derivados, o mesmo autor aponta o baixo controle de temperatura durante o armazenamento destes alimentos como a principal causa de ocorrência destes surtos.

A contaminação da matéria-prima por patógenos e a ingestão posterior desse alimento cru ou parcialmente cozido é outro fator de contaminação apontado, principalmente para surtos causados por bactérias patogênicas (1,12,21,23).

Dentro dos fatores que permitem a proliferação microbiana, a causa mais apontada pelos investigadores de surtos foi o prolongado tempo de exposição dos alimentos à temperatura ambiente. Já em relação aos fatores de sobrevivência dos patógenos, os mais citados são o tempo e a temperatura de cozimento insuficientes durante a cocção dos alimentos (1,12,13).

Como exemplo de cozimento insuficiente, Pakalinskiene et al. (38) relataram um surto de gastroenterite, causada por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *Salmonella* Anatum, que afetou cerca de 200 alunos e professores em novembro de 2006, depois de um jantar em escola de ensino médio em Copenhague, Dinamarca.

Na Holanda, em junho de 2008 uma conferência foi organizada pelo Serviço de Segurança dos Alimentos desse país, e pelas autoridades Europeias desse setor, com objetivo de discutir os novos desafios para a segurança dos alimentos bem como estratégias e metodologias para combater as DTA causadas por micro-organismos (20).

Estudo realizado no sul do Brasil, envolvendo surtos de salmonelose, constatou-se que algumas das principais razões para a ocorrência destes parecem estar relacionadas ao armazenamento impróprio dos alimentos e também pelo consumo de alimentos sem inspeção prévia (8,39).

O monitoramento da contaminação na cadeia alimentar, incorporado a vigilância e investigações epidemiológicas de surtos e casos esporádicos é importante fonte de informação, mas novas abordagens devem ser incrementadas. Essa informação pode ser usada para desenvolver novos métodos de rastreamento, como por exemplo, técnicas moleculares para detecção de isolados de espécies microbianas e a investigação comportamental dos micro-organismos (20).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos estudos analisados, apenas uma pequena parcela dos casos de DTA estão registrados nos bancos oficiais dos sistemas da Vigilância Sanitária, evidenciando o problema mundial de sub-notificação. Os surtos registrados geralmente são aqueles que envolvem um maior número de pessoas ou aqueles que apresentam sintomas mais prolongados ou severos. Apesar desses entraves, dados mundiais registram um aumento significativo de DTA, nos últimos anos. O presente estudo analisou dados de surtos alimentares que permitiram identificar características importantes dessas síndromes como os principais agentes etiológicos, os alimentos mais comumente implicados e os fatores causais mais frequentes. Com base nesses dados, microrganismos como *Salmonella*, *S. aureus*, *B. cereus* e *E. coli* foram agentes bacterianos importantes nas DTA ocorridas em diferentes países, enquanto que *L. monocytogenes* parece ser a principal responsável pelos óbitos relacionados as DTA ocorridas nos EUA. Os alimentos mais frequentemente envolvidos com as DTA foram os crus ou parcialmente cozidos, principalmente àqueles a base de ovos e produtos cárneos.

Os principais fatores causais foram a manipulação inadequada de alimentos, a exposição prolongada dos alimentos à temperatura ambiente, a refrigeração e a cocção inadequadas dos alimentos, enquanto que os restaurantes comerciais e as residências foram os locais de ocorrência de surtos mais frequentemente citados em diversos estudos.

REFERÊNCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention, - CDC - Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks - United States, 1998-2002. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5510a1.htm#top>> Acesso em: 20 janeiro 2010.
- Buzby JC, Roberts T. The Economics of Enteric Infections: Human Foodborne Disease Costs. *Gastroenterology*. 2009;136:1851-62.
- Silva Jr EA. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Serviços de Alimentação. 6 ed. São Paulo: Ed Varela. 2008.
- Loir YL, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2003;2:63-76.
- Greig JD, Ravel A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution, *International Journal of Food Microbiology*. 2009;130:77-87.
- Forsythe SJ. *Microbiology of Safe Food*. 2 ed. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010.
- Carmo, GMI. et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. *Boletim eletrônico epidemiológico*, Brasília, ano 5, n.6, 2005. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/busca/buscar.cfm>> Acesso em: 01 agosto 2006.
- Costalunga S, Tondo EC. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, 1997 a 1999. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2002;33:342-6.
- Vaillant V, Valk H, Baron E, Ancelle T, Colin P, Delmas M-C. et al. Foodborne Infections in France. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2005;2:221-32.
- Mürmann L, Santos MC, Longaray SM, Both JMC, Cardoso M. Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008;39:529-34.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde- SVS. Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas Por Alimentos. 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf> Acesso em: 01 agosto 2010.
- Tauxe RV. Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 2002;78:31-41.
- Greig JD, Lee MB. Enteric outbreaks in long-term care facilities and recommendations for prevention: a review. *Epidemiol. Infect.* 2009;137:145-55.
- Rodrigues MM, Bertin BMA, Assis L, Duarte EB, Avelar AMO, Paixão JTS. et al. Indícios de *Rotavirus* na etiologia de um surto de infecção de origem alimentar. *Ciência Tecnol Alim*. 2004;24:88-93.
- Welker CAD, Both JMC, Longaray SM, Haas S, Soeiro MLT, Ramos RC. Análise microbiológica dos alimentos envolvido sem surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev. Bras. de Biociências*. 2010;8:44-8.
- Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31758>. Acesso em: 01 agosto 2010.
- São Paulo, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - SES/SP, Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE, Doenças Transmitidas por Alimentos, Estado de São Paulo. 1999-2008. Trabalho apresentado no III Seminário WHO Global Salmonella Surveillance, 29/09 a 03/10/2008, Brasília, DF, Brasil. 2008. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/hidri_ydtaa.htm> Acesso em: 10 março 2010.
- RIO GRANDE DO SUL. Secretaria Estadual da Saúde. Divisão de Vigilância Sanitária. Relatórios Anuais de DTA. Porto Alegre, 2008.
- Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, et al. Food-borne diseases - The challenges of 20 years ago still persist

DTA, agentes etiológicos e aspectos gerais

- while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:3–15.
20. Havelaar AH, Brul S, Jong A, Jonge R, Zwietering MH, Kuile BH. Future challenges to microbial food safety. *International Journal of Food Microbiology Intern Journal of Food Microbiology*. 2009;139:79–94.
 21. Hughes C, Gillespie IA, O'Brien SJ. Foodborne transmission of infectious intestinal disease in England and Wales, 1992–2003. *Food Control*. 2007;18:766–72.
 22. Much P, Pichler J, Allerberger F. Foodborne infectious outbreaks, Austria 2005. *Wien Klin Wochenschr*. 2007;119:150–7.
 23. Michino H, Otsuki K. Risk Factors in Causing Outbreaks of Food-Borne Illness Originating in School Lunch Facilities in Japan. *J. Vet. Med. Sci*. 2000;62:557–60.
 24. Centers for Disease Control and Prevention. – CDC - FoodNet 2007 Surveillance Report. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, 2009.
 25. Wang S, Duan H, Zhang W, Li JW. Analysis of bacterial foodborne disease outbreaks in China between 1994 and 2005. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;51:8–13.
 26. Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2007. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/apresentacao_dta.pdf> Acesso em: 01 agosto 2010.
 27. Tauxe RV, Doyle MP, Kuchenmüller T, Schlundt J, Stein CE. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infection. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;139:16–28.
 28. OPAS (PAHO) – Organização Pan-Americana da Saúde. Cholera in the Americas. *Epidemiological Bulletin of the Pan American Health Organization*. 1995. Disponível em: <http://www.paho.org/english/sha/epibul_95-98/be952choleraam.htm>. Acesso em: 01 agosto 2010.
 29. Henao OL, Scallan E, Mahon B, Hoekstra RM. *Methods for Monitoring Trends in the Incidence of Foodborne Diseases: Foodborne Diseases Active Surveillance Network 1996–2008. Foodborne Pathogens and Disease*. 2010.
 30. O'Brien SJ, Gillespie IA, Sivanesan MA, Elson R, Hughes C, Adak GK. Publication bias in foodborne outbreaks of infectious intestinal disease and its implications for evidence-based food policy. *England and Wales 1992–2003. Epidemiol. Infect*. 2006;134:667–74.
 31. FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Salmonella Enteritidis* Outbreak in Shell Eggs. 2010. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/NewsEvents/WhatsNewInFood/ucm222684.htm>>. Acesso em: 19 agosto 2010.
 32. Oliveira FA, Brandelli A, Tondo EC. Antimicrobial resistance in *Salmonella Enteritidis* from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. *The New Microbiologica*. 2006;29:49-5.
 33. Daniels NA, Mackinnon L, Rowe SM, Bean NH, Griffin PM, Mead PS. Foodborne disease outbreaks in United States schools. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 2002;21:623–8.
 34. Michelin AF, Carmo LS, Carlos IZ. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigui, São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 2006;65:46-9.
 35. Pigott DC. Enfermedades asociadas a los alimentos. *Rev Chil Infect*. 2008;25:395-9.
 36. Jay JM. *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
 37. Hedberg CW, et al. The use of clinical profiles in the investigation of foodborne outbreaks in restaurants: United States, 1982–1997. *Epidemiol. Infect*. 2008;136:65–72.
 38. Pakalniskiene J, Falkenhorst G, Lisby M, Madsen SB, Olsen KEP, Nielsen EM, et al. A foodborne outbreak of enterotoxigenic *E. coli* and *Salmonella Anatum* infection after a high-school dinner in Denmark, November 2006. *Epidemiol. Infect*. 2009;137:396–401.
 39. Nadvorny A, Figueiredo DMS, Schmidt V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2004;32:47–51.

Recebido: 30/08/2010

Aceito: 23/09/2010

10.2 APÊNDICE 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os manipuladores de alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar de um estudo realizado por pesquisadores do Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE-UFRGS), que tem como objetivo determinar as condições higiênico sanitárias dos serviços de alimentação de escolas públicas da cidade de Porto Alegre, levantando e fazendo análises da realidade, visando obter bases para melhor planejar programas de capacitação dos manipuladores de alimentos e criar manuais de orientação.

Assim, gostaríamos que você respondesse um questionário com perguntas sobre sua rotina de trabalho. Estas informações serão utilizadas para fins do estudo e os dados aqui registrados em nenhum momento serão divulgados com seu nome ou nome da escola, sendo que utilizaremos apenas um número para identificar seu questionário. Em nenhum momento você será exposto a algum risco se participar da pesquisa. A sua participação neste estudo não envolve nenhuma despesa e nem mesmo gratificação.

Você tem total liberdade para recusar a participação do estudo e também a de retirar o seu consentimento se considerar necessário; bem como o de solicitar outros esclarecimentos sobre o estudo a qualquer momento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo para sua pessoa.

Eu, _____
concordo em participar do estudo intitulado: “Condição higiênico-sanitária da água e ambiente de preparo da alimentação em escolas públicas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar no município de Porto Alegre – RS”, que será coordenado pela Prof^a. Ana Beatriz Almeida de Oliveira, coordenadora

do CECANE-UFRGS, estando ciente que em nenhum momento serei exposto a riscos devido a minha participação e que poderei a qualquer momento recusar continuar sem nenhum prejuízo para minha pessoa. Sei também que os dados dos questionários serão usados para fins científicos com a garantia de que não serei identificado.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto.

Pelo exposto, concordo voluntariamente em participar do referido estudo.

Assinatura do Entrevistado

Pesquisador Responsável
Ana Beatriz Almeida de Oliveira
Telefone: (51) 3308.5585
CECANE/UFRGS