

ASSUAN DJAMILA IBRAHIM MOGHARBEL

**VALIDAÇÃO DO EMPREGO DE INSTRUMENTOS DE COLETA DE
DADOS, ALFACE E MANIPULADORES COMO INDICADORES DE
BOAS PRÁTICAS EM LANCHONETES**

CURITIBA
2007

ASSUAN DJAMILA IBRAHIM MOGHARBEL

**VALIDAÇÃO DO EMPREGO DE INSTRUMENTOS DE COLETA DE
DADOS, ALFACE E MANIPULADORES COMO INDICADORES DE
BOAS PRÁTICAS EM LANCHONETES**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Lucia Masson

CURITIBA
2007

À minha mãe Anna Thereza,
maior amor do mundo!

“Deus criou este mundo com Amor e criou o homem para amar;
Quem ama jamais se irrita com erros alheios;
Em vez disso, sente compaixão da pessoa que errou, e deseja que ela melhore;
Quem ama é bondoso e gentil com todas as pessoas;
Como sou filho (a) de Deus, sou gentil com todas as pessoas”.

Masaharu Taniguchi

AGRADECIMENTOS

- À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de participação no programa através desta linha de pesquisa.
- À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Maria Lucia Masson, pela grande paciência, apoio e amizade inestimáveis ao longo do curso. E posso afirmar que fui privilegiada quando cruzados nossos caminhos, marcou-me como exemplo de retidão profissional, moral e espiritual.
- Ao Prof. Dr. Renato João Sossela de Freitas, pela brilhante pessoa e onde tudo começou.
- À Prof.^a Dr.^a Edna Regina Amante, pela amizade, valorização do meu trabalho e atencioso tratamento dispensado pelos valiosos comentários como membro da banca de defesa desta tese.
- Aos colegas do Curso de Pós-G em Tecnologia de Alimentos, e outros que não pertencem ao Programa, pela amizade e “resistência” em permanecerem até a última etapa no dia da apresentação da defesa.
- À doce e musical Sofia, pela apoio, sinceridade e gratuita ajuda naquilo que estava ao seu alcance. Nunca duvide da minha admiração, amizade e carinho:, pois “nada cai do céu na vida de ninguém” Obrigada por “cair” na minha.
- À Tecnoquímica Sistemas de Higiene Profissional LTDA. Que cedeu o material para as análises microbiológicas e financiamento deste trabalho.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA I.....	iii
DEDICATÓRIA II.....	iv
AGRADECIMENTOS.....	v
SUMÁRIO.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivo Geral.....	3
1.2 Objetivos Específicos	3
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Segurança Alimentar.....	5
2.1.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).....	8
2.2 Hortaliças.....	10
2.3 Alface.....	12
2.4 Lanchonetes.....	20
2.5 Contaminação Microbiológica.....	21
2.5.1 Microrganismos indicadores.....	24
2.5.2 Bactérias aeróbias mesófilas.....	27
2.5.3 Bolores e leveduras.....	27
2.5.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	30
2.5.5 <i>Salmonella</i> sp.....	31
2.5.6 Coliformes a 35° C (Coliformes Totais).....	31
2.5.7 Coliformes a 45° C (<i>Escherichia coli</i>).....	32
2.5.7.1 <i>Escherichia coli</i>	32
2.6 Contaminação Parasitária em Hortaliças.....	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Material.....	35
3.1.1 Amostragem.....	35
3.1.1.1 Lanchonetes.....	35
3.1.1.2 Alface.....	35
3.1.1.3 Manipuladores.....	36
3.1.1.4 Água.....	36
3.2 MÉTODOS.....	38
3.2.1 Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs).....	38

3.2.2 Análises Microbiológicas.....	53
3.2.2.1 Bactérias aeróbias mesófilas.....	54
3.2.2.2 Bolores e leveduras.....	54
3.2.2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	54
3.2.2.4 <i>Salmonella</i> sp.....	55
3.2.2.5 Coliformes a 35° C (coliformes totais).....	55
3.2.2.6 Coliformes a 45° C (<i>E. coli</i>).....	56
3.2.3 Análises Parasitológicas.....	56
3.2.4 Amostragem.....	57
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1 Instrumento de Coleta de Dados (ICDs).....	59
4.2 Avaliação Microbiológica.....	71
4.2.1 Alface Antes da Lavagem (AL).....	71
4.2.2 Alface Depois da Lavagem (DL).....	75
4.2.3 Comparativo de Contaminantes Microbiológicos nas Lanchonetes entre AL e DL.....	83
4.2.4 Manipuladores.....	87
4.2.5 Água de Lavagem(AGL).....	90
4.3 Avaliação Parasitaria.....	91
4.4 Comparação entre resultados obtidos nas lanchonetes avaliadas.....	96
5 CONCLUSÕES.....	98
REFERÊNCIAS DE TRABALHOS PUBLICADOS DA TESE.....	100
REFERÊNCIAS.....	101
ANEXOS.....	117

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	1 -	CULTIVARES DE ALFACES TIPO CRESPA.....	12
FIGURA	2 -	ESQUEMA GERAL DE PREPARO DE ALFACE PARA CONSUMO <i>IN NATURA</i> .	16
FIGURA	3 -	SEQUÊNCIA GERAL DE ISOLAMENTO DE PATÓGENOS DE ALIMENTOS.....	24
FIGURA	4 -	SEQUÊNCIA DO MÉTODO <i>PETRIFILM</i>	25
FIGURA	5 -	ALGUNS EXEMPLOS DE FORMATOS DE LEVEDURAS.....	28
FIGURA	6 -	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DAS ANÁLISES.....	37
FIGURA	7 -	FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DAS LANCHONETES.....	40
FIGURA	8 -	AVALIAÇÃO.....	41
FIGURA	9 -	PISO CARACTERISTICO ENCONTRADO NA MAIORIA DAS LANCHONETES..	61
FIGURA	10 -	ARMAZENAMENTO INCORRETO DE PRODUTO PERECIVEL.....	63
FIGURA	11 -	ARMAZENAMENTO DE MATÉRIAS PRIMAS E UTENSÍLIOS.....	64
FIGURA	12 -	LIXEIRA ADEQUADA PARA ESTABELECIMENTO ALIMENTÍCIO.....	65
FIGURA	13 -	CAIXA DE GORDURA INADEQUADA.....	66
FIGURA	14 -	LIMPEZA DE PISO REALIZADA POR UM MANIPULADOR GERAL (MG) DE UMA LANCHONETE PESQUISADA.....	67
FIGURA	15 -	COMPARATIVA DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DE LAVADAS (AL) E DEPOIS DE LAVADAS (DL).....	83
FIGURA	16 -	COMPARATIVO DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL) E DEPOIS DA LAVAGEM (DL).....	85
FIGURA	17 -	COMPARATIVA DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DE LAVADAS (AL) E DEPOIS DE LAVADAS (DL).....	86
FIGURA	18 -	CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NAS AMOSTRAS DE MANIPULADORES DE ALFACE (ME) NAS LANCHONETES PESQUISADAS para: aeróbios mesófilos (BAM), bolores e leveduras (BEL), <i>S. aureus</i> , coliformes a 35°C (C35) e 45 °C (C45).....	89
FIGURA	19 -	CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANALISADAS ANTES DA LAVAGEM (AL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS.....	92
FIGURA	20 -	CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANALISADAS DEPOIS DA LAVAGEM (DL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS.....	93

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	CONTAMINAÇÃO EM HORTALIÇAS NO CICLO PLANTIO, COLHEITA, CONSERVAÇÃO E CONSUMO.....	9
QUADRO 2 -	CRITÉRIOS E VALORES REFERENTES AOS ITENS DE JULGAMENTO DOS INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS.....	38
QUADRO 3 -	AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS DOIS BLOCOS (A, B) CONSTITUÍDOS NO ICD 4.....	69

LISTA DE TABELAS

TABELA	1 -	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ALFACE (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	13
TABELA	2 -	VOLUME COMERCIALIZADO DA ALFACE TIPO CRESPA NO ANO DE 2006..	14
TABELA	3 -	VALORES DA CONSTANTE (k) DE CARACTERÍSTICA PARA CADA ICD AVALIADO.....	51
TABELA	4 -	PESOS PARA CADA INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS PARA APLICAÇÃO NA FÓRMULA PARA CÁLCULO DE PONTUAÇÃO.....	51
TABELA	5 -	CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DAS LANCHONETES.....	52
TABELA	6 -	PLANEJAMENTO DE AMOSTRAGEM E ANÁLISES NOS PONTOS DE COLETA.....	57
TABELA	7 -	AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS TRÊS BLOCOS (A, B, C) RELACIONADOS AO ICD 1.....	59
TABELA	8 -	AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS TRÊS BLOCOS (A, B, C) RELACIONADOS AO ICD 2.....	62
TABELA	9 -	AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS DOIS BLOCOS (A, B) RELACIONADOS AO ICD 3.....	66
TABELA	10 -	AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS DOIS BLOCOS (A, B) CONSTITUÍDOS NO ICD 4.....	68
TABELA	11 -	CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL).....	71
TABELA	12 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AL.....	72
TABELA	13 -	CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL).....	73
TABELA	14 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AL.....	74
TABELA	15 -	CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (<i>E. coli</i>) EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL).....	74
TABELA	16 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (<i>E. coli</i>) EM AL.....	75
TABELA	17 -	CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL).....	76
TABELA	18 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM DL.....	77
TABELA	19 -	CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL).....	77
TABELA	20 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM DL.....	78
TABELA	21 -	CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C NAS AMOSTRAS DE FOLHAS DE ALFACE DEPOIS DE LAVADAS (DL).....	79
TABELA	22 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C EM DL.....	79
TABELA	23 -	APLICAÇÃO DAS MÉDIAS DA CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C EM AL PELO TESTE DE TUKEY.....	80
TABELA	24 -	CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (<i>E. coli</i>) EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL).....	81
TABELA	25 -	ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (<i>E. coli</i>) EM DL.....	82
TABELA	26 -	APLICAÇÃO DAS MÉDIAS DA CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C EM DL PELO TESTE DE TUKEY.....	82
TABELA	27 -	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM ME DE MÃOS DOS MANIPULADORES ESPECÍFICOS (ME) VINCULADOS À PRÁTICA DO PREPARO DE ALFACE PARA O PREPARO DE SANDUÍCHES.....	87
TABELA	28	ANÁLISE DE COLIFORMES A 35° C E 45° C EM AMOSTRAS DA ÁGUA USADA NA LAVAGEM DA ALFACE (AGL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS	90

TABELA 29	COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DE LANCHONETES ANALISES PARASITARIAS , AGUA DE LAVAGEM DAS ALFACES E PESQUISA DO NMP/g PARA COLIFORMES A 45° C (DL).....	96
-----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Σ	Somatória
Aa	Atividade de Água
ABIA	Associação Brasileira das Industriais de Alimentos
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGL	Água de Lavagem (alface)
AL	Antes da Lavagem (alface)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists.</i>
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
APHA	<i>American Public Health Association</i> (Associação Americana de Saúde Pública)
ATP	Trifosfato de Adenosina
DL	Depois da Lavagem (alface)
HACCP	<i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i>
ICD	Instrumento de Coleta de dados
ICMSF	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Food</i> (Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos)
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CCFH	<i>Codex Committee on Food Hygiene</i> (Comitê do Codex Alimentarius sobre Higiene dos Alimentos)
CELEPAR	Companhia de Informática do Estado do Paraná
CEPPA	Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos
CFSAN	<i>Center for Food Safety and Applied Nutrition</i> (Departamento dos Estados Unidos da América para Segurança Alimentar e Aplicação Nutricional)

CFU	<i>Colony Forming Units</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação)
FDA	<i>United States Food and Drug Administration</i> (Departamento dos Estados Unidos da América para Alimentos e Fármacos)
ICD	Instrumento de Coleta de Dados
IMS	Separação Imunomagnética
L	Lanchonete
ME	Manipulador específico (alface)
MG	Manipulador Geral (Lanchonetes)
MS	Ministério da Saúde
n	Número de Amostragem
NACMCF	<i>National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods</i> (Comitê Consultor dos Estados Unidos da América sobre Normas Microbiológicas para Alimentos)
NSF	<i>National Sanitation Foundation</i> (Fundação Norte-americana de Sanitização)
OMS	Organização Mundial de Saúde
ppm	Parte por milhão
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	Ácido Ribonucléico
TFED	Técnica de Filtro Epifluorescente Direta

UAN	Unidade de Alimentação e Nutrição
UFC/g	Unidade Formadora de Colônia por grama
UR	Umidade Relativa
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)

RESUMO

A avaliação das condições higiênico-sanitárias em estabelecimentos é fundamental para a adoção de medidas corretivas que garantam ao consumidor a não exposição à DTA ou infecções causadas por agentes biológicos. Foram elaborados Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs), para avaliar as condições higiênico-sanitárias de 11 lanchonetes que comercializavam sanduíches contendo folhas de alface. Foram utilizadas as metodologias da APHA, ICMSF, AOAC e IAL para as análises microbiológicas e parasitárias. Foram encontrados os seguintes resultados de classificação das lanchonetes de acordo com os ICDs, com valor bom 9,1%; com valor regular 27,3% e 63,7% com valor deficiente. As análises microbiológicas foram realizadas na alface antes e depois da lavagem, mãos dos manipuladores específicos e água de lavagem das alfaces. As amostras de alface antes da lavagem (AL) para as análises microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas; de bolores e leveduras e de coliformes a 45° C (*E. coli*), não apresentaram diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$). As amostras de alface depois da lavagem (DL) para as análises microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas; de bolores e leveduras e de coliformes a 35° C (coliformes totais), não apresentaram diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$). Na comparação das amostras AL e DL, a redução foi de 10^2 UFC/g para as bactérias aeróbias mesófilas. Para a análise de contagem de bolores e leveduras manteve o mesmo nível de contaminação e na contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) não obteve uma redução de contaminação nas lanchonetes L6, L10 e L11, enquanto que nas demais obtiveram redução de até 10^2 UFC/g. Na análise de contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) para DL foi constatado diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P \leq 0,05$); porém, com a análise das médias no teste de Tukey, as médias não diferiram entre si. Para as mãos dos manipuladores foi verificada contaminação por *Staphylococcus aureus* o que indica que não existia uma adequada técnica de higienização por parte destes operadores, ou que os procedimentos de higienização eram inadequados. A água de lavagem das amostras de alface apresentou resultados aceitáveis pelo método da AOAC n° 991.15, para as lanchonetes L1; L2; L3; L4; L5 e L8. Para as análises parasitárias foi verificado que as amostras da alface AL não estavam contaminadas 27% das lanchonetes com parasitas (ovos e larvas); enquanto que para as DL foram encontrados 82%. Das lanchonetes contaminadas na maioria prevaleceu a identificação do parasita *Ascaris lumbricoides*. Na maioria das alfaces comercializadas nos sanduíches pode-se considerar que existe a presença de microrganismos que poderão ser prejudiciais à saúde do consumidor.

Palavras-chave: alface, avaliação, microbiologia, parasitologia, lanchonete.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL AND PARASITOLOGICAL EVALUATION OF THE LETTUCE (*Lactuca sativa* L. cv VERONICA) AS INDICATOR OF THE HYGIENIC-SANITARY CONDITIONS IN SNACK BARS. The evaluation of the hygienic-sanitary conditions in food establishments is fundamental for the adoption of measures correctives that they not guarantee to the consumer the toxoinfections exhibition caused by biological agents. Data Collection Instruments (DCIs) were elaborated to evaluate the hygienic-sanitary conditions of 11 snack bars that marketed several sandwiches contends lettuce. The methodologies of APHA, ICMSF, AOAC and IAL were used for the analyses microbiological and parasitic. They were found the following results of classification of the snack bars in agreement with DCIs, with good value 9.1%; with value regular 27.3% and 63.7% with faulty value. The microbiological analyses were accomplished before and after the wash in the lettuce, the specific manipulators' hands and water of wash of the lettuces. The lettuce samples before the wash (AL) for the microbiological analyses of aerobic mesophilic plate count; of yeast and molds and of coliforms at 45° C (*E. coli*), they didn't present significant difference in the level at the 5% ($P > 0,05$). The lettuce samples after the wash (DL) for the microbiological analyses of aerobic mesophilic plate count; of yeast and molds and of coliforms at 35° C (total coliforms); they didn't present significant difference in the level at the 5% ($P > 0,05$). In the comparison of the samples AL and DL, the reduction went by 2 log CFU/g for the aerobic mesophilic plate count. For the analysis of yeast and molds count maintained the same level of contamination and in the coliforms at 45° C count (*E. coli*) didn't obtain a reduction of contamination in the snack bars L6, L10 and L11, while in the others obtained reduction of up to 2 log CFU/g. In the analysis of coliforms at 45° C (*E. coli*) significant difference was verified in the level at the 5% ($P \leq 0,05$). For the manipulators' hands they obtained contamination for *Staphylococcus aureus*; coliforms at 35° C and coliforms at 45° C), what indicates that an appropriate sanitization technique doesn't exist on the part of these operators, or that they are inadequate. The water of wash of the lettuce samples presented results below the limit for the method AOAC n° 991.15, to the snack bars L1; L2; L3; L4; L5 and L8. For the parasitic analyses was verified that the samples of the lettuce AL was not polluted 27% of the snack bars with parasites (eggs and larvae); while for the lettuce DL 82% were found. The lettuces in most were marketed in the sandwiches with the microorganism's presence that they can be harmful to the consumer's health.

Keywords: lettuce, microbiology, evaluation, parasitic, snack bars.

1 INTRODUÇÃO

A ciência e a tecnologia referentes à alimentação vêm ganhando terreno em todos os aspectos relacionados a esta área. A eficiência é medida em termos de economia de tempo, de energia, de esforço, de material gasto, aliada à segurança sanitária dos produtos alimentícios, das embalagens e dos utensílios. A agenda de atividades dos indivíduos não prevê tempo para almoço, e sim pequeno intervalo para mastigar um sanduíche e tomar um copo de leite, ou de refrigerante, ou ainda de suco natural, o que aumentou o consumo de preparações ligeiras, *snacking*, em lugar de refeições completas (ORNELLAS, 2000).

Mudanças no comportamento do consumidor colaboraram para crescente surgimento de comércio de refeições e trouxe uma preocupação a mais para os profissionais responsáveis pela vigilância sanitária: garantir a qualidade higiênico-sanitária destas refeições. A maioria dos proprietários leigos tem pouca preocupação em implementar sistemas de controle que assegure um padrão de qualidade aos alimentos oferecidos nestes estabelecimentos (VERGARA; REVUELTA ; MAJEM, 2000).

Entre os hábitos alimentares da população, é comum a substituição de uma refeição por um lanche rápido, em função da pouca disponibilidade de tempo para o preparo das refeições e o seu consumo ou mesmo na conciliação com jornadas de trabalho. Os consumidores desse tipo de refeição preocupam-se mais com a conveniência, praticidade, custo e sabor das preparações, muitas vezes em detrimento da qualidade sanitária do que estão ingerindo (CATAZONI, MORELHÃO; UIRCIC, 1999).

Doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são originadas pela ingestão de alimentos e/ou água contaminada por microrganismos, toxinas e/ou agentes químicos ou físicos. As DTAs têm sido alvos de inúmeras publicações científicas nos últimos anos. Entre os inúmeros fatores implicados nesta questão está o incremento da concentração urbana inerente ao modelo de desenvolvimento

trilhado pelo país nas últimas décadas. O crescimento territorial das cidades com conseqüente distanciamento dos locais de residência dos locais de trabalho e ainda a incorporação da mulher ao mercado formal de trabalho, têm determinado crescente aumento da demanda por serviços de alimentação coletiva acarretando alterações nos hábitos alimentares (FORSYTHE, 2002; JAY, 2005; LIMA, 2006; JANEWAY *et al.*, 2007).

Segundo TOMMASI (2002), a maioria das DTAs deve-se à manipulação inadequada. Dentre as causas mais comuns encontram-se: higiene pessoal deficiente, em que um alimento tocado com as mãos está sujeito a uma contaminação bacteriana proporcional ao grau de saúde física e higiene pessoal daquele que o prepara e ao grau de limpeza das instalações onde são preparados os alimentos; contaminação cruzada pode ocorrer entre a matéria-prima contaminada (carnes, aves, ovos e hortaliças) e os alimentos cozidos ou desinfetados. Esta contaminação também pode ocorrer através do cozimento inadequado de alimentos previamente contaminados (SILVA, 2000) e por limpeza insatisfatória dos equipamentos e utensílios, realizada antes e após utilização. Neste caso os alimentos são contaminados mediante contato com utensílios e superfícies de equipamentos insuficientemente higienizados. Microrganismos patogênicos podem estar presentes em partículas de alimentos ou na água sobre utensílios e equipamentos lavados inadequadamente.

Sanduíches preparados, que contenham hortaliças folhosas acompanhadas de outros vegetais ou não, têm comumente sido associados a surtos de toxinfecções alimentares. Esse fato decorre principalmente da forma de preparo dessas folhas que envolvem intensa manipulação e técnicas incorretas de higienização. Assim, o manuseio incorreto dessas folhas de consumo *in natura*, tem sido associado à veiculação de bactérias patogênicas relevantes para a saúde pública, tais como *Salmonella* sp; Coliformes a 35 °C e 45 °C (indicadores de condições de higiene inadequadas para consumo) bem como, a presença de bolores e leveduras e protozoários (SGARBIERI, 1987; NASCIMENTO; CATANOZI, 2003).

Considerando a alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar Verônica caracterizar-se como alimento de consumo *in natura*, a qualidade higiênico-sanitária nas etapas de processamento desta hortaliça poderá refletir alterações higiênico-sanitárias; o que torna esse alimento uma fonte de risco aos comensais que incorporaram o consumo freqüente de sanduíche decorrente das mudanças de hábitos alimentares.

1.1 Objetivo Geral

O objetivo desta pesquisa é desenvolver e validar metodologia para verificação das boas práticas em lanchonetes empregando como indicadores a alface, manipuladores e Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs).

1.2 Objetivos Específicos

- Adaptar os ICDs para possibilitar a classificação dos estabelecimentos segundo a condição higiênico-sanitária;
- Avaliar as contaminações microbiológicas das mãos dos manipuladores;
- Avaliar os aspectos higiênico-sanitários dos locais (lanchonetes) de processamento de alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar verônica para consumo *in natura* pela aplicação dos ICDs e análise da água;
- Avaliar as condições microbiológicas da alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar Verônica para consumo em sanduíches, mediante análises de:
 - a. Contaminação por bactérias mesófilas;
 - b. Contaminação por bolores e leveduras;
 - c. Contaminação por coliformes a 35°;
 - d. Contaminação por coliformes a 45°;
 - e. Comparação de tratamentos após lavagem.

- Correlacionar os aspectos relacionados pelos ICDs aos aspectos microbiológicos medidos, validando a metodologia;
- Avaliar características parasitológicas da alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar Verônica para consumo em sanduíches.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Segurança Alimentar

A questão alimentar é um dos mais graves problemas do mundo. Apesar do aumento na produção de alimentos, principalmente a partir da década de 70, grande parte da humanidade ainda vive em situação de insegurança alimentar (SILVA; ALBANEZ; SILVA, 2003).

No Brasil, devido à sua extensão e diferença climática entre as várias regiões, a produção de alimentos é uma das maiores do mundo em termos de volume. E com esta produção existem muitos fatores que são prejudiciais ao meio ambiente, causando danos, muitas vezes, impossíveis de ser recuperados. Entre estes, podem-se citar a pouca fertilidade da terra, erosão acelerada, assoreamento de cursos d'água, contaminação das águas e do ambiente por agroquímicos e fertilizantes, extinção de plantas e animais silvestres e principalmente envenenamento de alimentos (SILVA; ALBANEZ; SILVA, 2003).

A OMS em diversas publicações reconhece a importância da educação e do treinamento para a capacitação de recursos humanos na área de alimentos. O consumidor está mais exigente e conhecedor de seus direitos, demonstrando interesse na qualidade dos alimentos que ingere, reconhecendo a importância da segurança alimentar (GERMANO, 2003).

O termo segurança alimentar é utilizado como tradução de dois termos da língua inglesa: *food security* e *food safety*. O termo *food security* refere-se ao abastecimento e a garantia de que todas as pessoas tenham acesso físico e econômico a uma alimentação nutritiva, segura e em quantidade suficiente (FAO, 2006). O termo *food security* envolve o termo *food safety*, que significa garantia do consumo alimentar seguro no âmbito da saúde coletiva, ou seja, de produtos livres de contaminantes de natureza biológica, química e física (SPERS e KASSOU, 1996).

Segundo a OMS (2002), os fatores que mais contribuem para a presença de microrganismos em um alimento são a contaminação, a multiplicação e a sobrevivência dos mesmos. Os surtos ocorrem quando alguns desses fatores não foram controlados. Uma manipulação higiênica tem como objetivo controlar a presença de agentes patogênicos nos alimentos. Os erros mais comuns na manipulação de alimentos que propiciam episódios de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são: cozimento ou reaquecimento insuficientes para reduzir ou eliminar os agentes patogênicos; preparo de alimentos várias horas antes do consumo, e armazenamento em temperaturas que favorecem a multiplicação de bactérias patogênicas ou a formação de toxinas e falta de higiene pessoal do manipulador do alimento, causando a contaminação cruzada.

Segundo TAUXE (2002), perigo é definido como um agente biológico, químico ou físico em um alimento, ou a própria condição de um alimento, com o potencial de causar um efeito adverso à saúde, com propriedade que confere ao alimento possibilidade de causar dano à saúde, além do risco como sendo a probabilidade de ocorrência de um perigo.

No *CODEX ALIMENTARIUS* (2004), o contexto da análise de risco consiste em três atividades interligadas: avaliação de risco; administração de risco e comunicação do risco em relação à segurança do alimento.

Como ferramenta governamental, a *Internacional Commission of Microbiological Specification of Foods* (ICMSF), *Codex Committee on Food Hygiene* (CCFH) e as reuniões da WHO/FAO (2004) contribuíram na descrição dos diferentes passos necessários a uma análise de risco microbiológico. A avaliação do risco e a administração em segurança alimentar faz descrições e análises sistemáticas do risco de um determinado alimento quando esses riscos têm relação direta com metas de saúde pública para proteção dos consumidores, e a comunicação é o meio pelos quais as informações elaboradas pela administração são levadas aos indivíduos afetados pelo perigo, e que esses avaliem a eficácia da administração.

No Brasil, a responsabilidade pela fiscalização e controle da qualidade dos alimentos está dividida em três níveis, sob a responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007):

- os que são comercializados em todo país e podem ser exportados estão sob responsabilidade do governo federal e passam pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF);
- os que são comercializados em cada estado estão sob responsabilidade do governo estadual e no Paraná passam pelo Serviço de Inspeção do Paraná (SIP);
- os que são comercializados apenas nos municípios estão sob responsabilidade do governo municipal e passam pelo Serviço de Inspeção Municipal (SIM).

No caso dos alimentos que estão sob a responsabilidade do Ministério da Saúde (MS) secretariado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a fiscalização fica a cargo do governo municipal (GERMANO; GERMANO; OLIVEIRA, 1998).

Segundo a Resolução – RDC (Resolução de Diretoria Colegiada) N° 12, de 02 de janeiro de 2001, do Ministério da Saúde e ANVISA, foram definidos Padrões Microbiológicos Sanitários para alimentos caracterizados e considerados de interesse sanitário. Para hortaliças de consumo *in natura* foram estabelecidos dois critérios de padrões microbiológicos, para coliformes a 45° C e *Salmonella* sp, 10²/g e ausência em 25g de amostra, respectivamente (BRASIL, 2004a).

A RDC N° 12, para fins de registro e fiscalização, sugere ainda que: *outras análises podem ser complementadas quando do estabelecimento de programas de vigilância e rastreamento de microrganismos patogênicos* (BRASIL, 2004a).

Para o estabelecimento de procedimentos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para serviços de alimentação, a ANVISA publicou a RDC N° 216, de 15 de setembro de 2004, que são ações constituídas por regulamentos técnicos que visam normatizar o APPCC e BPF (BRASIL, 2004b).

Para a água, o Ministério da Saúde do Brasil através da Portaria N° 518, de 25 de março de 2004, regulamenta as normas de potabilidade para consumo humano, as quais proíbem, entre outros parâmetros, a presença de coliformes a 45°C e 35°C em amostras de 100 mL de água em sistemas fechados (BRASIL, 2004c).

A aplicação de multas e autuações em estabelecimentos produtores de alimentos que não cumprem os regulamentos descritos pelo APPCC e BPF, ainda está regida pela Lei 6.437 de 20 de agosto de 1977, que estabelece as sanções respectivas e dá outras providências sobre a legislação sanitária (BRASIL, 1977).

O propósito da avaliação de risco serve como ferramenta no processo de decisão que é empregado para ajudar os indivíduos a tomar decisões quando da ocorrência de problemas de interesse de um grupo. Sendo assim, a avaliação de risco pode assumir várias formas diferentes dependendo das situações em que elas ocorrem. Uma boa avaliação de risco é considerada eficiente quando as perguntas têm respostas simples e com fundamentação científica (REIJ; AANTREKKER, 2004).

O resultado de uma avaliação de risco possui em sua diretriz o controle dos fatores que se relacionam com um determinado produto, e que se traduz como situação de risco pelo consumo desses alimentos; por exemplo, os critérios microbiológicos que auxiliem na redução do impacto de danos à saúde dos que consomem o produto (RUIZ, VARGAS; GARCIA-VILLANOVA, 2001).

2.1.1 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs)

Doença transmitida por alimento (DTA) é uma síndrome de natureza infecciosa ou tóxica causada pela ingestão de alimentos e/ou de água que contenham agentes etiológicos de origem biológica, física ou química em quantidades que afetam a saúde do consumidor individual ou de um grupo da população (PARANÁ, 2004). Mais de 200 doenças são transmitidas através de alimentos e os agentes etiológicos incluem bactérias, fungos, vírus, parasitas, toxinas e metais. Os sintomas variam de gastroenterites suaves até graves

síndromes neurológicas, hepáticas e renais, que podem ser mortais (MEAD *et al.*, 1999).

Um surto de origem alimentar é reconhecido quando um grupo de pessoas desenvolve a mesma doença após exposição a um mesmo alimento, o número de casos é muito maior do que o esperado. Investigações por autoridades de saúde pública são conduzidas com o objetivo de identificar as fontes e controlá-las, de modo a prevenir outros casos. É geralmente durante as investigações de surtos que novos patógenos são identificados. Porém, os surtos estão cada vez mais difíceis de serem identificados, isso porque estão acontecendo cada vez mais dispersos e espalhados. Afetam apenas uma pequena proporção das pessoas que estiveram expostas e são o resultado de um baixo nível de contaminação ou então de alimentos que são distribuídos em vários locais, apenas uma vez. Esses surtos são de difícil detecção por causarem apenas um modesto aumento no número de casos aparentemente esporádicos (TAUXE, 2002).

Os sintomas das DTAs podem ser observados de poucas horas até 2 dias ou mais depois do consumo do alimento contaminado, o que aumenta a dificuldade em se detectar quais alimentos e quais patógenos foram os causadores das enfermidades. Muitos casos de enfermidades não são notificados, pois seus sintomas são parecidos com gripes. Dentre os sinais e sintomas mais comuns tem-se dor de estômago, náuseas, vômitos, diarreia e febre (FORSYTHE, 2002).

A maioria dos casos de DTAs deve-se à manipulação inadequada. Dentre as causas mais comuns encontram-se má utilização da temperatura no preparo e conservação dos alimentos, contaminação cruzada, higiene pessoal deficiente, limpeza inadequada dos equipamentos e utensílios e contato do manipulador infectado com alimentos já preparados (UNGAR, GERMANO e GERMANO, 1992; TOMMASI, 2002).

2.2 Hortaliças

Apesar das dificuldades de se localizar os focos contaminantes quando se trata de hortaliças frescas e das poucas informações científicas da magnitude de risco dentro de cada passo da cadeia produtiva desses vegetais, as evidências estão relacionadas à curta vida-de-prateleira desses alimentos (GARCIA-VILLANOVA; GALVEZ, 2000).

Riscos potenciais de contaminação biológica, física e química estão presentes nas diferentes fases envolvidas na produção vegetal. No Quadro 1 estão relacionados com as etapas de produção de hortaliças envolvendo elementos que podem acarretar contaminação, principalmente, pelo consumo *in natura*.

QUADRO 1 – CONTAMINAÇÃO EM HORTALIÇAS NO CICLO PLANTIO, COLHEITA, CONSERVAÇÃO E CONSUMO

FASE DO CULTIVO	ELEMENTOS POTENCIAIS DE CONTAMINAÇÃO
<ul style="list-style-type: none"> • Solo (preparo) 	Agrotóxicos e adubos ex: compostos nitrogenados
<ul style="list-style-type: none"> • Semeadura e crescimento 	Água de irrigação, adubos orgânicos, pastagem animal.
<ul style="list-style-type: none"> • Pré-lavagem no campo 	Água, uso incorreto de sanitizantes.
<ul style="list-style-type: none"> • Acondicionamento 	Manipulação humana, contato com animais, equipamentos, exposição ambiente.
<ul style="list-style-type: none"> • Resfriamento 	Umidade, contaminantes no ar.
<ul style="list-style-type: none"> • Estocagem 	Temperatura imprópria, higiene do ambiente.
<ul style="list-style-type: none"> • Preparo e consumo 	Contaminação cruzada.

FONTE: DOYLE, 1990 e BEUCHAT, 1996.

A qualidade e segurança de hortaliças consumidas *in natura* dependem de sua microbiota. Cada etapa percorrida entre o produtor e o consumidor final influenciará nos aspectos microbiológicos do produto. Manuseio, armazenamento, transporte e comercialização podem comprometer a qualidade e segurança do produto através do aumento da população dos agentes biológicos (BRACKETT; SPLITTSTOESSER, 1992).

Ao contrário dos produtos de origem animal, os vegetais, especialmente os folhosos, são muitas vezes consumidos crus, sem um processamento que reduza ou elimine microrganismos patogênicos. Pelo contrário, a tendência é ocorrer um

aumento da contaminação entre a horta e o consumidor, devido ao manuseio e condição de transporte, armazenamento e distribuição inadequados (ODUMERU *et al.* 1997).

Na irrigação são utilizadas água de córregos e rios sem tratamento prévio, que podem estar contaminadas pelo lançamento de esgotos domésticos. Esta contaminação pode atingir lençóis aquáticos de pouca profundidade, que são usualmente utilizados para poços rasos. Dessa forma, as hortaliças irrigadas com estas águas podem estar contaminadas por microrganismos patogênicos (TAKAYANAGUI *et al.*, 2000).

A qualidade da água tem grande influência na contaminação dos alimentos. A água pode conter em suspensão diversos microrganismos, principalmente bactérias provenientes do solo ou de materiais fecais do homem ou de outros animais. Muitas vezes, estas bactérias são patogênicas, como por exemplo, *Salmonella sp*, *Shigella sp* e outras espécies capazes de provocar infecções ou intoxicações alimentares (SILVA, 2000).

As atividades de higiene, limpeza e sanitização fazem parte do esquema de segurança sanitária do local que produz determinado alimento. Estes sistemas devem ser objetos de constante vigilância, pois a ocorrência de alguma falha poderá prejudicar o produto, principalmente quando se convertem em focos de microrganismos deterioradores ou patogênicos (HOBBS; ROBERTS, 1999).

As hortaliças são consumidas *in natura* até sete dias após a colheita e podem ser responsáveis por surtos de DTA pela capacidade de sobrevivência de microrganismos em sua superfície entre 7 a 40 dias. Contaminação de ocorrência acidental é um fator preocupante para a saúde pública, principalmente devido as hortaliças serem vendidas normalmente, para consumo *in natura*. Sua contaminação pode ocorrer de forma química, física e biológica (BEUCHAT, 1996).

Segundo FORSYTHE (2002), o conhecimento da ecologia microbiana ao longo da cadeia alimentícia (plantio, transporte, varejo e preparação) ajuda a

identificar os patógenos e a possível fonte de origem através de passos de monitoramento ambiental, em estudo de análises de risco o que implementa informações analíticas adicionais que possibilitam a eficiência no controle das medidas preventivas.

2.3 Alface

Por volta do ano 4500 a.C. a alface (*Lactuca sativa* L.), já era conhecida no antigo Egito e chegou ao Brasil no séc. XVI com os portugueses. De efeito calmante graças a duas substâncias a lactupicrina e a lactucina, a alface é a hortaliça folhosa de maior consumo no Brasil, a média *per capita* de consumo é de quase dois quilos por ano, que representa 40% do gasto total com verduras destinadas à compra da alface. A cultura da alface apresenta alto grau tecnológico, sendo comuns às práticas de produção em estufa, hidroponia e cultivo orgânico, que permitem obter verduras de qualidade durante o ano todo (FILGUEIRA, 1982).

A alface está entre as 10 hortaliças mais consumidas *in natura* no Brasil, sendo bastante utilizada na confecção de sanduíches, decoração de pratos e saladas. Esta é a sexta hortaliça em importância econômica e oitava em termos de volume produzido (MAISTRO, 2001).

A alface é apresentada sob quatro categorias: americana; lisa; mimosa e crespa. A alface americana é caracterizada por apresentar cabeça crespa, com as folhas internas cor creme, folhas imbricadas como as do repolho, consistentes e quebradiças, com nervura destacada, aspecto geral pouco delicado (MOTA *et al.*, 2001). A alface lisa caracteriza-se pelo porte grande, cabeças compactas, folhas de coloração verde claro e arredondada, alta uniformidade e alto rendimento no acondicionamento. A alface mimosa é caracterizada pela excelente uniformidade da planta, das folhas e tamanho, com coloração verde brilhante. A alface crespa caracteriza-se pelo porte grande, miolos cheios, uniformes e com alto rendimento; as folhas são bem repicadas e de coloração verde claro ao verde escuro (SAKATA, 2007).

Segundo CAETANO *et al.* (2001), o mercado consumidor tem a preferência dividida entre alfaces de folhas crespas e lisas. Os cultivares mais comuns da alface tipo crespa são: Vanda, Veneza Roxa, Vera e Verônica.

A alface (*Lactuca sativa* L.) cultivar Verônica é considerada padrão e líder de mercado, com plantas de porte grande, com folhas de coloração verde claro, semente de coloração preta e tempo de colheita entre 60 a 70 dias. A Figura 1 apresenta alguns cultivares de alface tipo crespa (SAKATA, 2007).

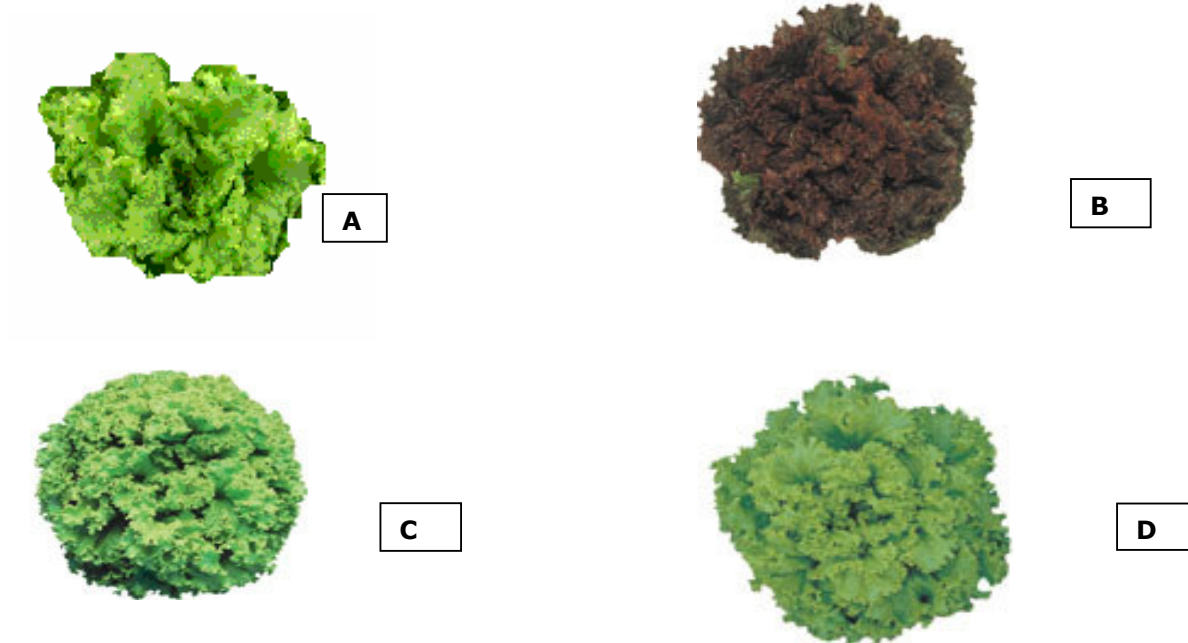


FIGURA 1 – CULTIVARES DE ALFACES TIPO CRESPA: A = cultivar Vanda; B = cultivar Veneza Roxa; C = cultivar Vera; D = cultivar Verônica

O aproveitamento dos nutrientes da alface é favorecido por ser consumida crua, destacando-se seu elevado teor em pró-vitamina A nas folhas verdes (cerca de quatro vezes o teor do tomate), porém, bem mais baixo nas folhas internas brancas. A sua produção no Brasil é restrita ao mercado nacional e, devido a perecibilidade do produto, as regiões de plantio se situam normalmente próximas ao mercado consumidor (PESAGRO-RIO, 2001).

A Tabela 1 apresenta a composição físico-química da alface.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ALFACE (*Lactuca sativa* L.)

ANÁLISE	VALOR (100g)
Calorias (Kcal)	14,00
Glicídios (g)	2,97
Proteínas (g)	0,90
Lipídios (g)	0,14
Cálcio (mg)	18,00
Potássio (mg)	141,00
Sódio (mg)	10,00
Zinco (mg)	0,15
Cobre (mg)	0,03
Fósforo (mg)	20,00
Ferro (mg)	0,41
Magnésio (mg)	7,00
Manganês (mg)	0,13
Selênio (mg)	0,10
Vitamina A (UI)	502,00
Tiamina (mg)	0,04
Riboflavina (mg)	0,03
Niacina (mg)	0,12
Vitamina C (mg)	2,80
Fibras (mg)	1,20
Umidade (%)	95,60
Cinzas (%)	0,36

FONTE: FRANCO, 2005; UNIFESP, 2007.

O Paraná, em 2006, foi o estado com maior volume comercializado de alface crespa no Brasil e também em quantidade comercializada, conforme a Tabela 2 (CEASA, 2007).

TABELA 2 - PERCENTUAL COMERCIALIZADO DE ALFACE TIPO CRESPA NO ANO DE 2006

LOCAL	TIPOS	TONELADAS (t)
PARANÁ	ALFACE CRESPA GRANDE	6.119
	ALFACE CRESPA MÉDIO	244
	ALFACE CRESPA PEQUENO	102
	TOTAL	6.465

FONTE: CEASA, 2007.

Até alguns anos atrás não existia muita preocupação em relação aos produtos frescos por parte de órgãos reguladores, pois eram considerados seguros, já que eram lavados e rapidamente consumidos. Com a tendência ao aumento do consumo das hortaliças, a preocupação com riscos de natureza microbiológica torna-se acentuada, pois as operações de preparo como lavagem e corte são feitas manualmente, aumentando o risco de contaminação dos produtos. Um fator importante é que ao cortar as hortaliças, estas liberam fluidos ricos em nutrientes, disponibilizando-os aos microrganismos, permitindo que estes se multipliquem e aumentem a carga microbiana inicial (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001).

Segundo FERREIRA *et al.* (2003) o processo de deterioração que ocorre em alface se inicia ainda no campo; pois, a partir do momento em que as mesmas são retiradas da lavoura, as suas células, agora desprovidas do abastecimento de nutrientes normalmente obtidos do solo, entram em fase de senescência (deterioração). A mudança estrutural mais significativa que ocorre nesta fase é o amolecimento ou perda de textura, causado por reações enzimáticas naturais que degradam a parede celular dos vegetais “quebrando” e “abrindo” as células, provocando reações oxidativas e possibilitando um posterior ataque de microrganismos. Portanto, microrganismos patogênicos podem sobreviver e se multiplicar em muitas hortaliças, em virtude destes alimentos possuírem nutrientes necessários ao seu rápido desenvolvimento (ABDUL-RAOUF; BEUCHAT; AMMAR, 2005).

Na manipulação de alimentos consumidos *in natura* é necessário dar ênfase à adoção de medidas preventivas para o controle sanitário nas várias etapas do processo de produção de alimentos (ARRUDA, 2004).

Para prevenir infecção ou intoxicação associada ao consumo de frutas e vegetais, é necessária a identificação do produto para aplicar medidas específicas de intervenções. Como a possibilidade de contaminação não pode ser excluída, a aplicação de um maior número de processos descontaminantes nesses produtos promove maior segurança no consumo principalmente em refeições fora do lar (NSF, 2000).

A transferência de patógenos por manipuladores de alimentos, em particular de mãos, é de relevante importância em estabelecimentos de serviços de alimentação (CHEN *et al.*, 2004). Muitas publicações identificaram deficiência na higiene pessoal. O hábito de não lavar as mãos tem, em particular, sido identificado como o modo causador de transmissão de patógenos. Mãos são consideradas muito importantes na transferência de microrganismos como *Shigella*, *S. aureus*, *E.coli* e vírus (SGARBIERI, 1987).

A EMBRAPA/SEBRAE (2003) desenvolveu um esquema no preparo de alface para um serviço de produção e distribuição centralizado, representado na Figura 2.

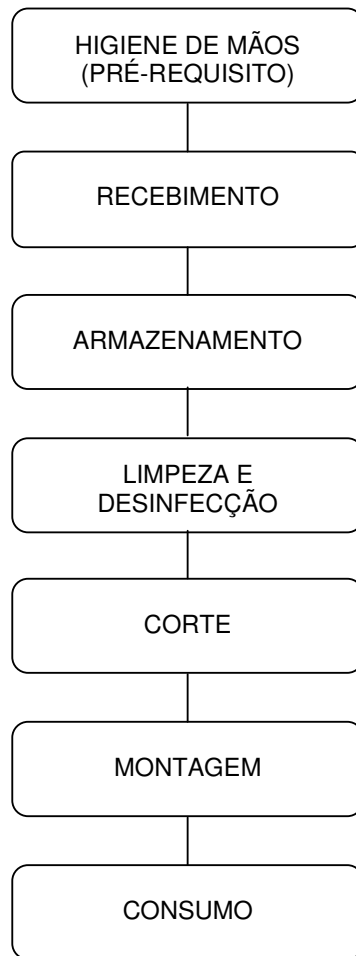


FIGURA 2 – ESQUEMA GERAL DE PREPARO DE ALFACES PARA CONSUMO
IN NATURA
FONTE: EMBRAPA/SEBRAE, 2003.

A contaminação das mãos dos manipuladores (Figura 2) pode ser oriunda do solo, água, poeira e outros elementos ambientais. Outras fontes importantes são as fossas nasais, a boca e a pele. Em condições muito precárias de higiene os microrganismos do trato gastrointestinal também podem contaminar as mãos dos manipuladores e, conseqüentemente, os alimentos por eles preparados (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Por isso, os manipuladores devem lavar bem as mãos com água e sabão toda vez que: entrar em serviço; forem ao banheiro e vestiário; fizerem coleta do lixo; realizarem limpeza; coçarem o nariz; preparar; guardarem ou distribuírem alimentos (SILVA JUNIOR, 2002).

Os manipuladores de alimentos exercem um papel significativo nas toxinfecções alimentares causadas por *S. aureus*, freqüentemente encontrado nas

lesões sépticas das mãos. Desta maneira, estas devem ser higienizadas com frequência e sempre que houver trocas de tarefas (SVESSON, 2000).

Devem ser recebidas as alfaces que apresentarem aparência sem defeitos físicos ou mecânicos; ausência de manchas, sujidades, corpos estranhos, insetos e larvas. A temperatura deve ser ambiente, e as folhas devem ser acondicionadas em sacos plásticos transparentes incolores ou em caixas plásticas. Na recepção deve ocorrer pré-lavagem e seleção; onde as alfaces são transferidas para caixas plásticas e jateadas com água potável, sob pressão (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

O armazenamento visa à preservação ou retardamento da decomposição das alfaces, que é causada pela atividade microbiana, assim, após retirar as folhas visivelmente defeituosas, essas devem ser armazenadas sob refrigeração, entre 8°C e 10°C em embalagens que permitam circulação de ar, e em local livre de sujidades (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

Neste processo as alfaces são novamente selecionadas, onde são retiradas as unidades ou folhas danificadas. Depois são lavadas folha a folha, em água corrente e acondicionada em utensílio tipo escorredor. Após, as folhas são imersas em solução de hipoclorito de sódio, na concentração de 200 ppm e mantidas por 15 minutos. Em seguida são enxaguadas em água corrente potável, utilizando-se um recipiente tipo escorredor ou peneira, devidamente higienizado (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

O corte deve ser precedido de lavagem das mãos dos manipuladores, dispensando o ato de enxugá-las. Sempre quando houver necessidade de manipular outro tipo de alimento as mãos devem ser novamente lavadas antes de continuar o processo. No corte da alface deve-se utilizar como apoio tábua de polipropileno e faca, devidamente higienizados (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

Após o corte as folhas devem ser acondicionadas em recipientes higienizados (tipo cuba inox, travessa inox, recipiente de material plástico individual ou embalagem de alumínio), com auxílio de utensílio (pegador) higienizado. Depois

devem ser cobertas com tampa própria ou com filme plástico (PVC atóxico) (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

A EMBRAPA/SEBRAE(2003) recomenda que as folhas de alface sejam acondicionadas em recipientes refrigerados, sendo que na temperatura de 10°C o armazenamento pode ser por um período de até 04 horas e acima dessa temperatura o tempo será de duas horas no máximo, sendo a temperatura limitada a 21 °C. Fora destes limites, o produto deve ser descartado.

Na montagem e elaboração as folhas devem ser retiradas do ambiente refrigerado no momento do uso destas ao preparar sanduíches, retornando o recipiente com as folhas que permaneceram ao local de conservação. O contato com as folhas deve ser através de utensílios próprios e previamente submetidos à desinfecção. Esse procedimento deve ser repetido a cada período de montagem do alimento (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

O consumo deverá ocorrer imediatamente após a montagem do sanduíche. Considerando não apenas características de paladar, o binômio tempo/ temperatura deve ser de extrema importância, considerando o contato dos diversos elementos agregados no preparo e característicos de sanduíches (EMBRAPA/SEBRAE, 2003).

A lavagem é uma das técnicas utilizadas para a higienização de alimentos para consumo *in natura*, pois pode eliminar sujidades visíveis nas hortaliças. Ao passo que para um eficaz procedimento de lavagem é necessário, então, tomar os devidos cuidados na técnica de higienização, tais como: desprezar as partes deterioradas; utilização de sanitizantes; utilização de utensílios adequados para o tamanho e quantidade a ser higienizado; utilização de E.P.I.s adequados para que ocorra a eliminação de contaminantes como parasitas e microrganismos patogênicos (SILVA JUNIOR, 2007).

2.4 Lanchonetes

A ABRASEL - Associação Brasileira de Restaurantes e Empresas de Entretenimento – fornece informações quanto às instalações físicas e Alvarás de Funcionamento aos empreendedores que pretendem montar um comércio no setor da alimentação. O órgão orienta a consulta ao Procon para adequar os produtos às especificações do Código de Defesa do Consumidor pela Lei nº 8.078 de 11.09.1990, assim como define a principal atividade e a ficha técnica do estabelecimento (ABRASEL, 2006).

Segundo Ferreira (2004), lanchonetes são casas onde se servem refeições ligeiras, sucos de frutas, sanduíches entre outros. As lanchonetes possuem em sua principal atividade o comércio popular especializado em pequenas refeições, lanches e sanduíches. É considerado ainda como um setor terciário na economia e seu produto principal é o comércio varejista de lanches e acessórios complementares (ABRASEL, 2006).

A Resolução RDC N° 216 estabelece procedimentos de boas práticas para serviços de alimentação, e tendo como âmbito de aplicação, entre outros estabelecimentos, lanchonetes dentro do território nacional (BRASIL, 2004b).

As lanchonetes são avaliadas de acordo com as boas práticas de elaboração de seus produtos. Geralmente, nesta avaliação são criados instrumentos de coletas de dados (ICDs), que são ferramentas para determinar se existe ou não uma boa concepção de boas práticas de higiene e conservação de alimentos. Com os ICDs confecciona-se um manual que dará ao pesquisador uma visão clara do controle de qualidade do local analisado (FISBERG *et al.*, 2005).

2.5 Contaminação Microbiológica

Os microrganismos de interesse em alimentos são encontrados em três grandes grupos: bactérias, bolores e leveduras. Certos tipos de vírus e de alguns parasitas são, também, causadores de problemas de saúde pública, sendo importante porque podem ser veiculados através dos alimentos (ANDRADE, 2006).

A capacidade de crescimento e/ou sobrevivência dos microrganismos patogênicos nos alimentos dependem não só das características físicas e nutricionais do alimento, como também de um conjunto de fatores extrínsecos e intrínsecos ao próprio alimento. Bactérias patogênicas e/ou suas toxinas causam a maioria dos surtos e casos notificados de DTAs. Praticamente todos os alimentos, de origem vegetal ou animal que não tenham sido objetos de processamento, podem veicular microrganismos patogênicos, desde que, em algum momento, tenham sido sujeitos ao contato com material contaminante (PINTO, 2004; MASSAGUER, 2005).

A fim de se evitar a contaminação cruzada, o fluxo de produção deve ser unidirecional, com áreas separadas para manipulação e preparo dos vários grupos de alimentos (carnes, vegetais, confeitarias, etc). Se os alimentos crus e cozidos forem preparados nas mesmas superfícies, usando os mesmos equipamentos e pelos mesmos manipuladores, ou se eles forem estocados próximos, os microrganismos podem se disseminar dos ingredientes crus para os alimentos que já sofreram tratamento térmico. Portanto, a separação de superfícies, equipamentos e pessoal para alimentos crus e cozidos, lavagem correta e regular das mãos, particularmente após manipular alimentos crus, e bons esquemas de limpeza impostos são essenciais para que se reduza a contaminação cruzada (MASSAGUER, 2005; ANDRADE, 2006).

A capacidade de crescimento e de sobrevivência dos microrganismos patogênicos nos alimentos depende não só das características físicas nutricionais

do alimento, como também de um conjunto de fatores extrínsecos e intrínsecos ao próprio alimento, tais como: temperatura, pH, atividade da água e potencial redox, cada um dos quais pode ser manipulado convenientemente, de modo a impedir a contaminação e o crescimento destes microrganismos. Bactérias patogênicas e/ou suas toxinas causam a maioria dos surtos e casos notificados de doenças de origem alimentar. Esses microrganismos são encontrados, em um determinado nível, em alimentos crus. Condições de estocagem e manipulação impróprias desses alimentos contribuem para um aumento significativo de sua quantidade. Alimentos processados, como por exemplo, os que sofreram cocção, podem ser contaminados por contaminação cruzada ou falha no processo (não atinge a temperatura ideal de cozimento), por microrganismos patogênicos que alcançam rapidamente uma dose infectante. A maioria dos microrganismos, cuja patogenicidade ao homem depende da sua presença, sob a forma viável nos alimentos, é relativamente sensível às altas temperaturas e, por isso, são perfeitamente destruídos pelo aquecimento adequado dos alimentos, eventualmente contaminados. Encontram-se como causadoras de infecções as bactérias não esporuladas, em particular as espécies do gênero *Salmonella* e *Escherichia*. Praticamente todos os alimentos, de origem vegetal ou animal que não tenham sido objetos de processamento, podem veicular a *E. coli*, desde que, em algum momento, tenham sido sujeitos à poluição fecal (PINTO, 1996).

Segundo FRANCO e LANDGRAF (2005) dentre os principais fatores que determinam a capacidade de multiplicação de microrganismos nos alimentos podem ser citados:

- O MEIO NUTRITIVO: é preciso que os microrganismos disponham de nutrientes disponíveis para sua multiplicação, como água; fonte de energia; fonte de nitrogênio; vitaminas; sais minerais.

- ATIVIDADE DE ÁGUA (Aa): microrganismos necessitam de água para sua sobrevivência. Para seu metabolismo e multiplicação, os microrganismos exigem a presença de água na forma disponível. Água ligada a macromoléculas por forças físicas não está livre para agir como solvente ou para participar de reações químicas e, portanto, não pode ser aproveitada pelos microrganismos.

- TEMPERATURA AMBIENTE: o fator mais importante que afeta a multiplicação é a temperatura. Os microrganismos podem multiplicar-se em uma faixa bastante ampla de temperatura, havendo registros de multiplicação a um mínimo de -35°C e um máximo de 90°C .

- pH: assim como ocorre com a atividade de água, os microrganismos têm valores de pH mínimo, ótimo e máximo para sua multiplicação. Verifica-se que pH em torno da neutralidade, isto é, entre 6,5 e 7,5 é o mais favorável para a maioria dos microrganismos.

- POTENCIAL DE OXI-REDUÇÃO: o potencial de oxidação e redução está relacionado com a troca de elétrons entre compostos químicos. O potencial de oxi-redução pode ser definido como sendo a facilidade com que determinado substrato ganha ou perde elétrons.

- UMIDADE RELATIVA (UR): há uma relação estreita entre a Atividade de Água (Aa) de um alimento e a umidade relativa de equilíbrio do ambiente. Assim, alimentos conservados em ambiente com UR superior à sua Aa, tenderão a absorver umidade do ambiente, causando um aumento da Aa no alimento. Essas alterações provocarão modificações na capacidade de multiplicação dos microrganismos presentes, que será determinada pela Aa final.

- FATORES ANTIMICROBIANOS NATURAIS: a estabilidade de alguns alimentos frente ao ataque de microrganismos é devida à presença de algumas substâncias naturalmente presentes nesses alimentos, tendo a capacidade de retardar ou mesmo impedir a multiplicação microbiana.

A mais baixa temperatura de crescimento de um microrganismo conhecida é -34°C ; a mais alta é acima de 100°C . Costuma-se classificar os microrganismos em quatro grupos, conforme a sua temperatura de crescimento. Aqueles cuja temperatura de crescimento encontra-se na faixa de 0°C a 20°C , com crescimento ótimo entre 10°C e 15°C , denominados psicrófilos. Aqueles que crescem a temperatura de 7°C ou abaixo e possuem a temperatura ótima de

crescimento entre 20° C e 30° C são denominados psicotróficos. Os microrganismos que crescem bem entre 20° C e 45° C e possuem temperatura ótima de crescimento entre 30° C e 40° C são denominados mesófilos, enquanto os que crescem bem a 45° C ou mais e possuem temperatura ótima de crescimento entre 55° C e 65° C são referidos como termófilos (termoresistentes) (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

2.5.1 Microrganismos indicadores de higiene

Os microrganismos indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre a ocorrência de contaminações de origem fecal, sobre a existência de microrganismos patogênicos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições higiênicas e sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Geralmente os microrganismos indicadores estão associados a microrganismos de origem intestinal, porém outros grupos podem ser utilizados como indicadores em determinadas situações. Os microrganismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica de alimentos devido às dificuldades encontradas na detecção de microrganismos patogênicos, como por exemplo, *Salmonella* sp (FRANCO; LANDGRAF, 2005; MASSAGUER, 2005).

Analisar amostras alimentícias e ambientais quanto à presença de bactérias patogênicas ou deteriorantes, fungos e toxinas é uma prática padrão para garantir a segurança e a qualidade do alimento (FORSYTHE, 2002).

Os métodos de detecção são freqüentemente categorizados em dois grupos: convencionais e rápidos. Os termos são, contudo, mal-aplicados uma vez que alguns métodos rápidos necessitam de 24 horas para o resultado ser obtido. Convencional refere-se a procedimentos que estão em uso comum; freqüentemente, envolvem homogeneização da amostra, preparação de uma série de diluições e inoculação em placas com ágar específicas para formação de colônias e subsequente contagem. Os métodos rápidos são alternativos aos convencionais e são projetados para obter o resultado final em menos tempo. Isto

é altamente desejável na indústria de alimentos, apesar das técnicas poderem ser de custo elevado e requererem pessoal com alto nível de treinamento (FORSYTHE, 2002; 3M, 2007).

Os métodos convencionais são muito sensíveis e econômicos, comparados com os métodos rápidos, mas requerem períodos de incubação de pelo menos 18 a 24 horas e contagens em um período de pelo menos 48 a 192 horas.

Na Figura 3 apresenta a seqüência geral de isolamento de patógeno de origem alimentar, em análise convencional.

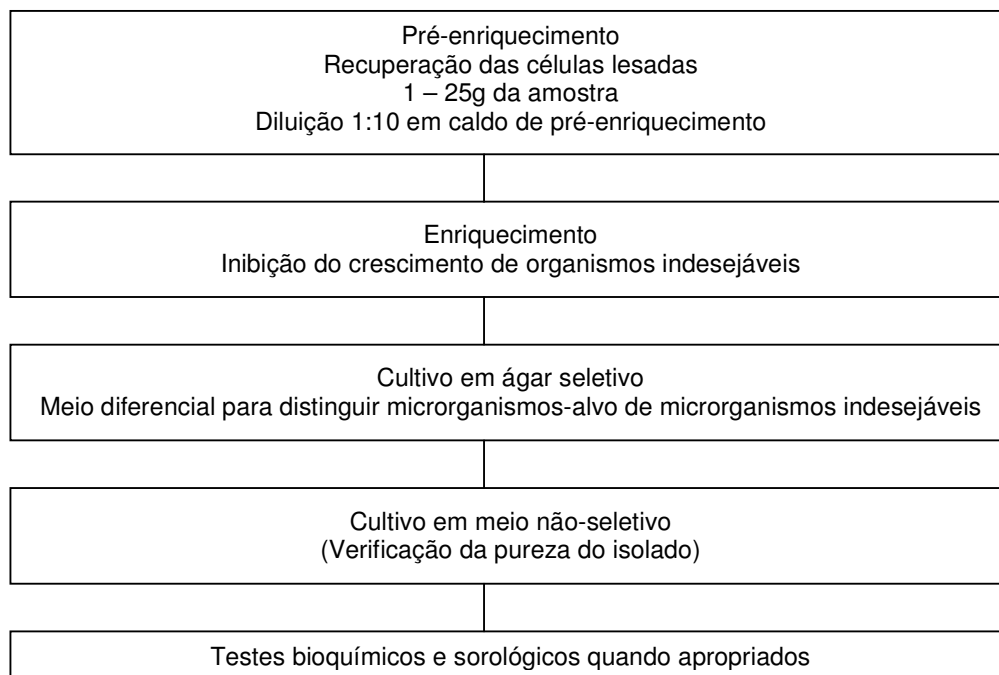


FIGURA 3 – SEQUÊNCIA GERAL DE ISOLAMENTO DE PATÓGENOS DE ALIMENTOS (FORSYTHE, 2002).

Os procedimentos convencionais são, por natureza, trabalhosos e consomem muito tempo. Portanto, métodos rápidos têm sido desenvolvidos para encurtar o tempo entre a coleta da amostra de alimento e a obtenção do resultado. Esses métodos visam tanto a substituir a etapa de enriquecimento convencional com uma etapa de concentração (por exemplo, separação

imunomagnética), caracterizado pela troca do método de detecção final de um período menor de tempo (por exemplo, microbiologia de impedância e bioluminescência pelo ATP) (FORSYTHE, 2002; JAY, 2005; JANEWAY *et al.*, 2007).

O sistema *Petrifilm* é uma alternativa ao método de plaqueamento convencional. O sistema utiliza uma mistura desidratada de nutrientes e agente gelificante sobre um filme. A adição de 1mL de amostra reidrata o gel, o que facilita a formação de colônias do microrganismo-alvo. As contagens de colônias são realizadas como no método de plaqueamento convencional. Os sistemas *Petrifilm* estão disponíveis para contagens aeróbias em placas, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, coliformes e *Escherichia coli* (FORSYTHE, 2002; BEERS, 2003; 3M, 2007).

O método Petrifilm é aprovado e validado pelos órgãos internacionais, APHA, AOAC International, USDA, USDA-FSIS, FDA dos Estados Unidos da América, SAG – Secretaria Nacional de Agricultura do Chile, HPBM - *Health Protection Branch Methods* do Canadá, AFNOR – *Association Française de Normalisation* da França, entre outros (AOAC, 2007; 3M, 2007).

Na Figura 4 é apresentada a seqüência do método Petrifilm.

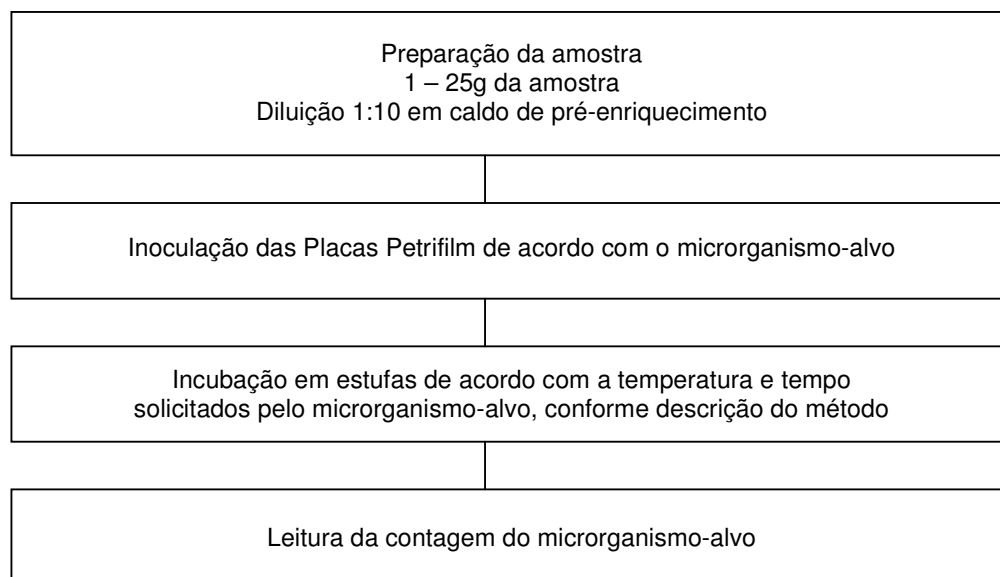


FIGURA 4 – SEQUÊNCIA DO MÉTODO *PETRIFILM* (3M, 2007).

As placas de *Petrifilm* são requeridas para um melhoramento de produtividade e devido a quantidade de análises, muitas vezes de grande porte, servindo para reduzir os custos (3M, 2007).

2.5.2 Bactérias aeróbias mesófilas

A contagem em placas de bactérias aeróbias é também comumente empregada na indicação da qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo que microrganismos patogênicos estejam ausentes e que não tenham ocorrido alterações sensoriais do alimento, um número elevado de microrganismos indica que o alimento é insalubre. Uma contagem elevada pode indicar o uso de matérias-primas contaminadas, processamento insatisfatório ou erros durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura. Todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Portanto, uma alta contagem de mesófilos significa que houve condições para que patógenos se multiplicassem nos alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

2.5.3 Bolores e Leveduras

Os fungos são compostos por hifas, que são filamentos de células que formam uma rede, chamada de micélio. Este se estende até o alimento e realiza a absorção de nutrientes (Figura 5).

A divisão das hifas em células é incompleta, caso em que elas são chamadas de septadas e as barreiras divisórias são chamadas septos, ou ausente, caso em que elas são chamadas asseptadas ou cenocíticas. Os fungos possuem paredes celulares feitas com quitina e outros materiais. As hifas podem ser modificadas para produzir estruturas celulares altamente especializadas. Por exemplo, fungos que parasitam plantas possuem haustórios que perfuram as

células da planta e digerem as substâncias no seu interior; alguns fungos que vivem no interior do solo absorvem vermes e outros pequenos animais. Os fungos não possuem clorofila, como nas plantas, por isso não podem realizar fotossíntese, e conseqüentemente, não produzem seu próprio alimento. Eles liberam ao seu redor uma substância chamada exoenzima, que age como a uma enzima digestiva. Essas enzimas digerem moléculas orgânicas do ambiente, e então o fungo absorve o seu alimento que foi digerido pelas exoenzimas (JAY, 2005).

Existem dois nichos ecológicos para os fungos: decompositores e parasitas. A diferença entre os dois é que os parasitas se fixam em organismos vivos, enquanto os decompositores se fixam em organismos mortos. Os parasitas ainda podem ser insectívoros ou helmintívoros, respectivamente, comedores de insetos ou minhocas. O primeiro, libera uma substância pegajosa à sua volta, onde moscas e pequenos insetos ficam presos e são digeridos pelas exoenzimas. O segundo, libera substâncias tranqüilizantes que imobilizam as minhocas (JANEWAY *et al.*, 2007)..

Os fungos terrestres podem se reproduzir sexuada e assexuadamente. O *Penicillium*, um tipo de fungo terrestre, gera através da mitose, células chamadas conidiósporos, que são lançadas no ambiente. Cada uma dessas células poderá gerar um novo ser, dependendo do local onde cair (como um pão, ou frutas) (FRANCO; LANDGRAF, 2005; PELCZAR JR.; CHAN; KRIEG, 2005).

As leveduras, como os bolores, são fungos, mas deles se diferenciam por se apresentarem, usual e predominantemente, sob forma unicelular. Como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente do que os bolores. Também são mais eficientes na realização de alterações químicas, por causa da sua maior relação área/volume. As leveduras também diferem das algas, pois não efetuam a fotossíntese, e igualmente não são protozoários porque possuem uma parede celular rígida. São facilmente diferenciadas das bactérias em virtude das suas dimensões maiores e de suas propriedade morfológicas (FANEWAY, 2007).

As leveduras não constituem um grupo definido de microrganismos, embora exibam uniformidade morfológica, as características fisiológicas são diferenciadas. A Figura 5 apresenta exemplos de morfologias de leveduras (PELCZAR JR.; CHAN; KRIEG, 2005; FANEWAY, 2007).

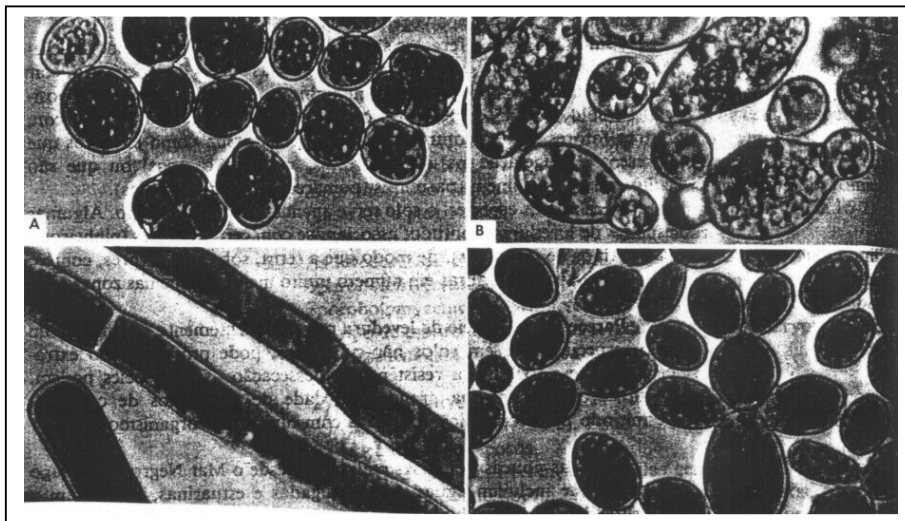


FIGURA 5 – EXEMPLOS FORMATO DE LEVEDURAS (JANEWAY *et al.*, 2007)

Bolores e leveduras produzem uma ampla série de metabólitos, dos quais muitos têm sido associados com o aparecimento de efeitos patológicos em animais e humanos. Para tais compostos têm sido empregados os termos toxinas que compreendem uma grande variedade de estruturas, inclusive algumas relativamente simples. As micotoxinas ocorrem em micélios de fungos filamentosos e são produzidas por uma ampla variedade de espécies (VERLINDER; NICOLAI, 2000).

A presença de bolores e leveduras em números consideráveis indica a absorção de umidade no processamento do alimento, o que propicia condições de aerobiose que acarreta o desenvolvimento de microrganismos aeróbios, categoria em que se inserem os agentes fúngicos. A presença de agentes fúngicos em alimentos não é desejável devido ao seu alto arsenal enzimático, que provêm uma grande capacidade deteriorante de alimentos. Esses agentes são responsáveis pelo desenvolvimento de quadros de alergia e/ou inflamação

gástrica decorrente, respectivamente, da inalação e ingestão de seus esporos (SOUZA, 1997).

2.5.4 *Staphylococcus aureus*

A contagem de *S. aureus* pode ser realizada com dois objetivos: para confirmar o envolvimento em surtos de intoxicação alimentar (devido à enterotoxina estafilocócica) ou para o controle da qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, já que o *S. aureus* atua como indicador de contaminação pós-processo, manipulação ou das condições de sanificação das superfícies destinadas ao contato com alimentos (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O gênero *Staphylococcus* é formado, atualmente, por trinta e duas espécies. Destas, *S. aureus* é a mais relacionada a casos e surtos de intoxicação alimentar, devido a capacidade da maioria de suas cepas produzir enterotoxinas. Na literatura são descritos inúmeros surtos de intoxicação alimentar causados pela ingestão de alimentos contendo enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas. Em função do risco à saúde pública que sua presença representa em alimentos estabeleceu-se em diversos países a obrigatoriedade de sua pesquisa e enumeração como parte das ações de fiscalização sanitária de órgãos governamentais (BALABAN; RASOOLY, 2000).

Com relação aos alimentos, o grupo dos estafilococos que são capazes de produzir a enzima coagulase, são os mais importantes pela sua freqüente ocorrência em alimentos preparados, o que pode indicar deficiência de processamento ou condições higiênicas inadequadas, uma vez presentes no alimento, poderá causar intoxicação alimentar (SILVA; GANDRA, 2001).

Não existe concordância sobre a dose infectante para *Staphylococcus aureus* capaz de causar sintomatologia em seres humanos, porém, de maneira geral, estima-se que esteja entre 0,015 e 0,375 µg de enterotoxina por quilo de peso corpóreo (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Jay (2002) relata que 200µg

seriam suficientes para causar a enfermidade e Silva (1998) reporta que a quantidade mínima requerida para causar intoxicação tem sido estimada em torno de 1mg/100g de alimento.

A incidência de *Staphylococcus aureus* em alimentos pode ocorrer em decorrência de contaminação na superfície de utensílios e equipamentos mal sanitizados e manipulação inadequada. Os indivíduos portadores desta bactéria são grandes fontes de contaminação para os alimentos por eles manipulados, pois quando tosem ou espirram sobre os alimentos, ou trabalham com cortes e arranhões na pele, podem atuar como um veículo de contaminação do alimento (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

2.5.5 *Salmonella* sp

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem a família Enterobacteriaceae, são bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos e possuem três tipos de antígenos principais: flagelar (H), somático (O) e capsulares (Vi) (NACMCF, 1998).

As salmoneloses de origem alimentar podem estar limitadas a um único indivíduo ou a um pequeno grupo de indivíduos relacionados, como podem também estar associadas a surtos de grandes proporções, envolvendo milhares de pessoas. É importante lembrar que os animais podem ser afetados por *Salmonella*, resultando em grandes prejuízos para os criadores. Neste caso, destacam-se as infecções por *S. dublin* no gado bovino, por *S. pullorum* e *S. gallinarum* nas aves (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

2.5.6 Coliformes a 35° C (Coliformes Totais)

As bactérias do grupo coliforme a 35°C (coliformes totais) são bastante comuns em alimentos, uma vez que se originam do próprio solo de cultivo, fazendo parte da microbiota normal se os produtos forem cultivados em solo livre

de contaminação fecal, irrigados com água de boa qualidade e manipulados sob condições de boas práticas. Sob esse aspecto, são indicadores da qualidade higiênico-sanitária dos processos e, se encontradas em altos índices populacionais, indicam risco de veiculação de outros patógenos como a *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* (SILVA; GANDRA, 2001).

Segundo PALU (2002) qualquer alimento que tenha sua superfície cortada é mais suscetível ao ataque por microrganismos que se encontram no próprio tecido vegetal ou proveniente do solo e ar; além disso, a liberação de nutrientes pelo corte e a manipulação também contribui para uma possível contaminação do alimento.

2.5.7 Coliformes a 45° C

A pesquisa de coliformes fecais nos alimentos fornece informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos. Em alimentos vegetais frescos o único indicador válido de contaminação fecal é a *E. coli*, visto que indica a quantidade dos microrganismos oriundos de excretas humanos, portanto com risco de serem patogênicos (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JANEWAY, 2007).

2.5.7.1 *Escherichia coli*

E. coli são bacilos Gram-negativos e estão incluídos na família *Enterobacteriaceae*, apresentando, portanto, as características morfológicas e bioquímicas desta família e que se caracterizam, entre outras, pela capacidade de fermentar a lactose, geralmente com produção de gás (FISHBEIN *et al.*, 1976).

No entanto, esta bactéria pertence ao grupo dos coliformes, juntamente com os gêneros *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*,

A utilização de *E. coli* como um indicador de contaminação de origem fecal foi proposta em 1892, por ser este um microrganismo encontrado no conteúdo intestinal do homem e de animais de sangue quente. Um indicador ideal de contaminação fecal deve preencher alguns requisitos como: ter como habitat exclusivo o trato intestinal do homem e outros animais, ocorre em número muito altos nas fezes, apresentar alta resistência ao ambiente extra-enteral, existência de técnicas rápidas, simples e precisas para a sua detecção e/ou contagem (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

E. coli são bactérias causadoras de toxinfecções alimentares através da produção de toxinas e/ou multiplicação da bactéria. A contagem deste microrganismo, sobretudo de origem fecal, indica as condições de higiene em que são submetidos os alimentos. Do ponto de vista higiênico-sanitário exerce importância a *E. coli* e seus diversos sorotipos no grupo dos coliformes fecais, podendo determinar casos de diarreia em indivíduos que venham a ingerir alimentos que veiculem tal microrganismo, principalmente crianças, idosos e imunodeprimidos (JAY, 2005).

2.6 Contaminação Parasitária em Hortaliças

Um grande número de enfermidades entéricas é veiculado através de verduras contaminadas; a principal forma de contaminação dessas hortaliças dá-se através da água contaminada por material fecal de origem animal e humano, utilizado na irrigação das hortas, ou ainda por contaminação do solo por uso de adubo orgânico com dejetos fecais. Soma-se a este fato o hábito alimentar de consumir hortaliças *in natura* possibilitando a transmissão de enteroparasitas (BERBARI; PASCHOALINO; SILVEIRA, 2001).

Segundo Lagaggio; Flores e Segabinazi (2002), contaminações parasitárias em hortaliças de consumo *in natura* mantêm-se em níveis elevados

tanto nas hortas quanto nos pontos de revenda; medidas higiénico-sanitárias devem ser tomadas antes do consumo do produto, pois a contaminação comprovadamente pode persistir nas três fases da produção que seriam durante o cultivo, pelo solo e pela água contaminados; durante sua comercialização pelas mãos dos produtores e caixas de transporte; e finalmente no momento de sua manipulação para o consumo.

A verificação da presença de enteroparasitas em verduras tem interesse em saúde pública, uma vez que fornece dados para a vigilância sanitária sobre as condições higiênicas envolvidas na produção, armazenamento, transporte e manuseio desses produtos e, constitui um excelente indicador da contaminação fecal (MESQUITA; SERRA; BASTOS, 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

3.1.1 Amostragem

A amostragem foi dividida em quatro partes de acordo com a necessidade das análises e do objeto a trabalhar: lanchonete, alface, manipulador e a água de lavagem da alface.

3.1.1.1 Lanchonetes

Para o item lanchonete, foram selecionados 11 pontos comerciais (L1-L11) aleatórios, situados na região do Jardim das Américas da cidade de Curitiba, próximo ao Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, devido à segurança no manuseio e conservação da coleta de dados e das amostras de alface.

Foram realizadas duas visitas em cada lanchonete, sendo a primeira para a aplicação dos Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs) e coleta de material para as análises microbiológicas e a outra visita para a coleta de material das análises parasitológicas.

3.1.1.2 Alface

Para o item alface, *Lactuca sativa* L, cultivar Verônica, foram coletadas três amostras de 25g antes da lavagem (AL) e três amostras de alface de 25g depois da lavagem, em cada lanchonete (DL), totalizando 66 amostras, com análise em triplicata. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno dotados de fecho de pressão, tipo *zip lock*, com o tamanho de 23x15cm, identificados com código de amostra, data e horário da coleta (CASTRO; POUZADA, 2003).

3.1.1.3 Manipuladores

Os manipuladores foram divididos em dois grupos, manipulador geral (MG) e manipulador específico da lavagem das folhas de alface (ME). O manipulador geral é o funcionário que trabalha em todas as áreas pertinentes, exceto na lavagem de alface. O manipulador específico é o que recebe, faz a lavagem e o armazenamento da alface para uso posterior em sanduíches, que é um dos objetos de pesquisa.

Foram coletadas 55 amostras das mãos dos manipuladores específicos (ME), pelo método de contato direto da superfície das mãos com o meio de cultura coletadas na hora do manuseio das folhas de alface, no momento do desfolhamento. As placas de contato direto de cada microrganismo-alvo foram acondicionadas em embalagens plásticas esterilizadas, identificados com código de amostra, data e horário da coleta. Estes sacos foram transportados até o laboratório em caixas de isopor.

3.1.1.4 Água

Para o item água de lavagem da alface foram coletadas 11 amostras (AGL). As amostras foram coletadas em torneira da cuba de lavagem das alfaces de cada lanchonete. A água foi acondicionada em recipiente de plástico, termoresistente esterilizado (fornecido pelo laboratório do CEPPA) contendo 10mg de tiosulfato de sódio p.a., identificado com código de amostra, data e horário da coleta.

Foi elaborado um planejamento experimental de avaliação laboratorial de agentes biológicos nas amostras de alface, manipuladores e na água de lavagem desta hortaliça, bem como aplicação dos ICDs nos locais estudados. Na Figura 6 são apresentadas as etapas definitivas para as análises e coleta das amostras.

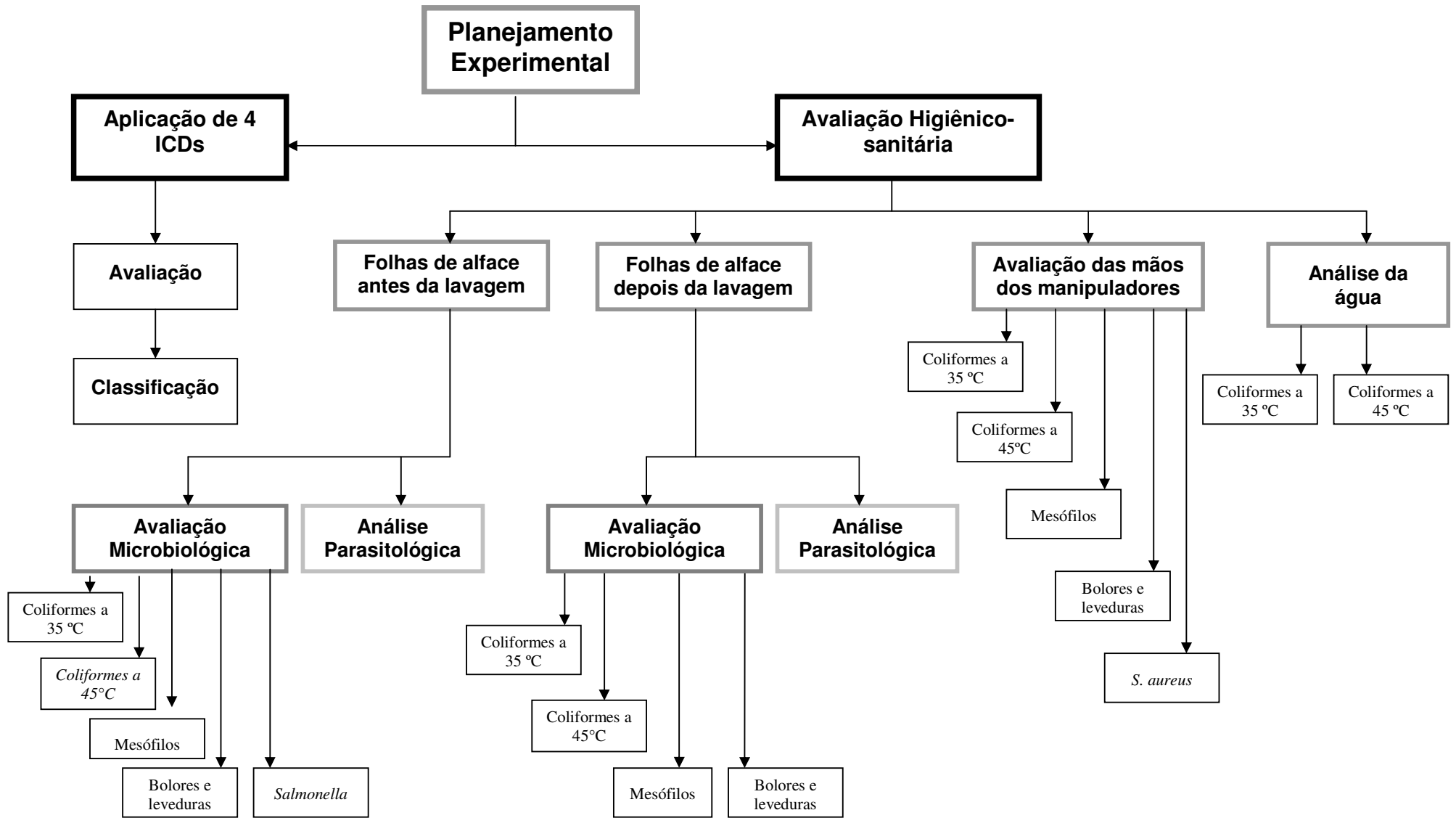


FIGURA 6 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL DAS ANÁLISES

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs)

Foram elaborados 4 (quatro) Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs) desenvolvidos a partir da Resolução RDC n° 275, de 21 de outubro de 2002 (BRASIL, 2002) e da Resolução n° 216 de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004) da ANVISA, e da Resolução SS n° 196/98 SP (SÃO PAULO, 1998). O ICD4 foi desenvolvido pelos autores Nascimento e Marques (1998) e adaptado para o propósito deste trabalho.

Foram adotados valores para cada item avaliado nos ICDS, conforme mostra o Quadro 2.

QUADRO 2 – CRITÉRIOS E VALORES REFERENTES AOS ITENS DE JULGAMENTO DOS INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS

VALOR DO ITEM AVALIADO	CRITÉRIOS
0	Quando o item avaliado não estiver em conformidade.
1	Quando o item em avaliação estiver em conformidade e sua importância relativa ao preparo de sanduíches for baixa.
2	Quando o item em avaliação estiver em conformidade e sua importância relativa ao preparo de sanduíches for média.
4	Quando o item em avaliação estiver em conformidade e sua importância relativa ao preparo de sanduíches for médio-alta.
6	Quando o item em avaliação estiver em conformidade e sua importância relativa ao preparo de sanduíches for alta.

FONTE: SAO PAULO, 1998.

Os critérios do Quadro 2 foram estabelecidos de modo a definir, em primeiro lugar se o item a ser avaliado estava em conformidade ou não com os parâmetros de boas práticas higiênico-sanitárias, sendo o escore adotado de 0 (zero) para itens em não conformidade e diferente de 0 (zero) para itens em níveis diferentes de conformidade. O estabelecimento dos níveis de conformidade levou em conta a influência direta e importância do item para o preparo de sanduíches que continham folhas de alface, sendo estabelecidos 4 (quatro) níveis: alto, médio-alto, médio e baixo. A importância relativa diz respeito ao envolvimento direto ou não do item avaliado na metodologia diária

de preparo de sanduíches com alface. Os itens estabelecidos (critérios) no Quadro 2 podem ser alterados conforme o objeto da pesquisa e sua importância para a segurança alimentar quanto aos aspectos higiênico-sanitários.

Os ICDs antes de serem aplicados nas 11 lanchonetes da amostragem, foram validados com a realização de quatro estudos piloto, aplicados em quatro lanchonetes dentro do campus do Centro Politécnico, da Universidade Federal do Paraná, com o objetivo de adaptar os ICDs à linguagem adequada, o tempo utilizado para a aplicação dos questionários e a ocorrência da redação com o perfil do entrevistado. Os ICDs foram analisados e adaptados à realidade presenciada. O perfil das lanchonetes utilizado para a preparação dos instrumentos de coleta de dados foi descrito de acordo com a elaboração e venda de sanduíches que continham folhas de alface, de acordo com os usuários mais freqüentes.

Para efeito deste estudo o Instrumento de Coleta de Dados foi dividido em quatro campos distintos para preenchimento:

Campo A – Identificação da lanchonete;

Campo B – Observações; Avaliação;

Campo C – Avaliação;

Campo D – Pontuação das lanchonetes

O CAMPO C corresponde aos quatro questionários aplicados nas lanchonetes avaliadas e podem ser observados na Figura 7.

FIGURA 8 – AVALIAÇÃO

O ICD1 trata da edificação e instalação, da higienização das instalações e o abastecimento geral de água para as lanchonetes.

continua

A. EDIFICAÇÕES E INSTALAÇÕES	SIM	NÃO	NA
A1) Instalações sanitárias independentes para cada sexo.	(4)	(0)	(4)
A2) Área externa livre de focos de insalubridade. de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente. de vetores e outros animais no pátio e vizinhança; de focos de poeira; de acúmulo de lixo nas imediações. de água estagnada. dentre outros.	(2)	(0)	(2)
A3) Área interna livre de objetos em desuso ou estranho ao ambiente.	(2)	(0)	(2)
A4) Piso de material que permite fácil e apropriada higienização (antiderrapante. resistente. drenado com declive e impermeável).	(2)	(0)	(2)
A5) Teto com acabamento liso. em cor clara. impermeável e de fácil limpeza.	(2)	(0)	(2)
A6) Teto em adequado estado de conservação (livre de trincas. rachaduras. umidade. bolor. descascamento e outros).	(2)	(0)	(2)
A7) Paredes com acabamento liso. em cor clara. impermeável de fácil limpeza.	(2)	(0)	(2)
A8) Paredes em adequado estado de conservação (livres de falhas. rachaduras. umidade. descascamento e outros).	(2)	(0)	(2)
A9) Paredes com existência de ângulos abaulados entre as paredes e o piso e entre as paredes e o teto.	(2)	(0)	(2)
A10) Portas com superfície lisa. de fácil higienização. ajustadas aos batentes. sem falhas de revestimento.	(2)	(0)	(2)
A11) Portas externas com fechamento automático e com barreiras. sem falhas de revestimento.	(2)	(0)	(2)
A12) Portas externas com barreiras de proteção à entrada de vetores e outros animais.	(2)	(0)	(2)

conclusão

A13) Janelas com superfície lisa. de fácil higienização. ajustadas aos batentes. sem falhas de revestimento. Com barreiras de proteção à entrada de vetores e outros animais.	(2)	(0)	(2)
A14) Instalações sanitárias isoladas da área de produção. acesso realizado por passagens cobertas e calçadas.	(4)	(0)	(4)
B.HIGIENIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES	SIM	NÃO	NA
B.1) Exigência de um responsável pela operação de higienização comprovadamente capacitado.	(2)	(0)	(2)
B.2) Frequência de higienização das instalações adequada.	(4)	(0)	(4)
B.3) Existência de registro da higienização.	(2)	(0)	(2)
B.4) Produtos de higienização regularizados pelo Ministério da Saúde.	(2)	(0)	(2)
B.5) Disponibilidade dos produtos de higienização necessários à realização da operação.	(2)	(0)	(2)
B.6) A diluição dos produtos de higienização. tempo de contato e modo de uso/aplicação obedecem às instruções recomendadas pelo fabricante.	(4)	(0)	(4)
B.7) Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.	(2)	(0)	(2)
B.8) Disponibilidade e adequação dos utensílios (escovas. esponjas. etc) necessários à realização da operação. Em bom estado de conservação.	(4)	(0)	(4)
C. ABASTECIMENTO DE ÁGUA	SIM	NÃO	NA
C1) Sistema de abastecimento de água ligada à rede pública.	(6)	(0)	(6)
C2) Adequada frequência de higienização do reservatório de água devidamente documentado.	(6)	(0)	(6)

O ICD2 trata dos equipamentos e utensílios, do armazenamento de matérias-primas e produtos, do controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário das lanchonetes.

continua

A. EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS	SIM	NAO	NA
A1) Dotados de superfície de contato com os alimentos lisos. íntegros. laváveis e impermeáveis. resistentes à corrosão. de fácil limpeza e de material não contaminantes (madeira ou outros).	(4)	(0)	(4)
A2) Em adequado estado de conservação e funcionamento.	(4)	(0)	(4)
A3) Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores. congeladores e outros) com adequada higiene e funcionamento.	(6)	(0)	(6)
A4) Instalados de forma adequada.	(4)	(0)	(4)
A5) Utilizados de acordo com sua finalidade de uso.	(4)	(0)	(4)
A6) Mesas em número suficiente. de material apropriado. resistente. liso e impermeável. com superfícies íntegras. em adequado estado de conservação.	(4)	(0)	(4)
A7) Utensílios em material não contaminante. resistente à corrosão. de tamanho e forma que permitam fácil limpeza e adequado estado de conservação.	(4)	(0)	(4)
A8) Higienização adequada.	(4)	(0)	(4)
B. ARMAZENAMENTO	SIM	NAO	NA
B1) Permite limpeza e manutenção adequada.	(2)	(0)	(2)
B2) Ausência de infiltrações.	(2)	(0)	(2)
B3) Ausência de embalagens rasgadas. estufadas ou abertas.	(4)	(0)	(4)
B4) alimentos estocados em prateleiras e separados por categorias.	(4)	(0)	(4)
B5) Ausência de produtos químicos ou objetos que não estejam relacionados com alimentos.	(4)	(0)	(4)
B6) Ventilação e iluminação adequadas.	(4)	(0)	(4)
B7) Ausência de pragas.	(6)	(0)	(6)
B8) Ausência de material estranho. estragado ou tóxico.	(4)	(0)	(4)

conclusão

B9) Produtos avariados e com prazo de validade vencido são devidamente identificados. armazenados em local separado e de forma organizada até seu destino final.	(6)	(0)	(6)
B10) Uso de produtos respeita a ordem de chegada dos mesmos (PEPS).	(6)	(0)	(6)
C. CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS URBANAS /MANEJO DE RESÍDUOS /ESGOTO SANITÁRIO	SIM	NAO	NA
C1) Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes. ninhos e outros.	(6)	(0)	(6)
C2) Adoção de medidas preventivas e corretivas com o objetivo de impedir a atração. o abrigo. o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas.	(4)	(0)	(4)
C3) Em caso de adoção de controle químico. existência de comprovante de execução do serviço expedido por empresa especializada.	(2)	(0)	(2)
C4) Recipientes para coleta de resíduos no interior do estabelecimento de fácil higienização e transporte. devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados.	(4)	(0)	(4)
C5) Recipientes tampados com acionamento não manual.	(4)	(0)	(4)
C6) Retiradas freqüentes dos resíduos da área de processamento. evitando focos de contaminação.	(4)	(0)	(4)
C7) Existência de área adequada para estocagem dos resíduos.	(4)	(0)	(4)
C8) Fossas. esgoto conectado à rede pública. caixas de gordura em adequado estado de conservação e funcionamento.	(4)	(0)	(4)

continua

A. EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS	SIM	NAO	NA
A1) Dotados de superfície de contato com os alimentos lisos. íntegros. laváveis e impermeáveis. resistentes à corrosão. de fácil limpeza e de material não contaminantes (madeira ou outros).	(4)	(0)	(4)
A2) Em adequado estado de conservação e funcionamento.	(4)	(0)	(4)
A3) Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores. congeladores e outros) com adequada higiene e funcionamento.	(6)	(0)	(6)
A4) Instalados de forma adequada.	(4)	(0)	(4)
A5) Utilizados de acordo com sua finalidade de uso.	(4)	(0)	(4)
A6) Mesas em número suficiente. de material apropriado. resistente. liso e impermeável. com superfícies íntegras. em adequado estado de conservação.	(4)	(0)	(4)
A7) Utensílios em material não contaminante. resistente à corrosão. de tamanho e forma que permitam fácil limpeza e adequado estado de conservação.	(4)	(0)	(4)
A8) Higienização adequada.	(4)	(0)	(4)
B. ARMAZENAMENTO	SIM	NAO	NA
B1) Permite limpeza e manutenção adequada.	(2)	(0)	(2)
B2) Ausência de infiltrações.	(2)	(0)	(2)
B3) Ausência de embalagens rasgadas. estufadas ou abertas.	(4)	(0)	(4)
B4) alimentos estocados em prateleiras e separados por categorias.	(4)	(0)	(4)
B5) Ausência de produtos químicos ou objetos que não estejam relacionados com alimentos.	(4)	(0)	(4)
B6) Ventilação e iluminação adequadas.	(4)	(0)	(4)
B7) Ausência de pragas.	(6)	(0)	(6)
B8) Ausência de material estranho. estragado ou tóxico.	(4)	(0)	(4)

conclusão

B9) Produtos avariados e com prazo de validade vencido são devidamente identificados. armazenados em local separado e de forma organizada até seu destino final.	(6)	(0)	(6)
B10) Uso de produtos respeita a ordem de chegada dos mesmos (PEPS).	(6)	(0)	(6)
C. CONTROLE INTEGRADO DE VETORES E PRAGAS URBANAS /MANEJO DE RESÍDUOS /ESGOTO SANITÁRIO	SIM	NAO	NA
C1) Ausência de vetores e pragas urbanas ou qualquer evidência de sua presença como fezes. ninhos e outros.	(6)	(0)	(6)
C2) Adoção de medidas preventivas e corretivas com o objetivo de impedir a atração. o abrigo. o acesso e ou proliferação de vetores e pragas urbanas.	(4)	(0)	(4)
C3) Em caso de adoção de controle químico. existência de comprovante de execução do serviço expedido por empresa especializada.	(2)	(0)	(2)
C4) Recipientes para coleta de resíduos no interior do estabelecimento de fácil higienização e transporte. devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados.	(4)	(0)	(4)
C5) Recipientes tampados com acionamento não manual.	(4)	(0)	(4)
C6) Retiradas freqüentes dos resíduos da área de processamento. evitando focos de contaminação.	(4)	(0)	(4)
C7) Existência de área adequada para estocagem dos resíduos.	(4)	(0)	(4)
C8) Fossas. esgoto conectado à rede pública. caixas de gordura em adequado estado de conservação e funcionamento.	(4)	(0)	(4)

O ICD3 trata dos manipuladores em geral e a especificidade dos manipuladores de folhas de alface.

A. MANIPULADOR GERAL (MG)	SIM	NÃO	NA
A1) Exames de saúde em dia.	(6)	(0)	(6)
A2) Ausência de afecções cutâneas, feridas e supurações; ausência de sintomas e infecções respiratórias, gastrintestinais e oculares.	(6)	(0)	(6)
A3) Utilização de uniformes de trabalho de cor clara, adequado à atividade e exclusivo para área de produção.	(6)	(0)	(6)
A4) Uniformes limpos e em adequado estado de conservação.	(6)	(0)	(6)
A5) Asseio pessoal: boa apresentação, asseio corporal, mãos limpas, unhas curtas, sem esmalte, sem adornos (anéis. Pulseiras, brincos. etc); manipuladores barbeados, com os cabelos protegidos.	(6)	(0)	(6)
A6) Cartazes de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem das mãos. e demais hábitos de higiene, afixados em locais apropriados.	(6)	(0)	(6)
B. MANIPULADOR ESPECÍFICO (ME)	SIM	NAO	NA
B1) O manipulador faz higiene das mãos antes de iniciar o processo.	(6)	(0)	(6)
B2) Utiliza algum EPI para as mãos.	(6)	(0)	(6)
B3) Apresenta cabelos bem protegidos, barba e bigode aparados.	(6)	(0)	(6)
B4) Possui unhas cortadas, limpas e sem esmalte.	(6)	(0)	(6)
B5) Existe algum tipo de ferimento nas mãos.	(6)	(0)	(6)

O ICD4 trata da aquisição e preparo de amostras de matérias-primas para utilização nos produtos, neste caso a alface.

BLOCO A - AQUISIÇÃO DA ALFACE	SIM	NÃO
A1) A compra da alface é feita no mesmo dia do consumo.	(6)	(0)
A2) No local da compra as alfaces estavam sob refrigeração.	(6)	(0)
A3) Antes do manuseio das alfaces e em cada intervalo de preparo das folhas. o alimento permanece refrigerado.	(6)	(0)
BLOCO B – FORMA DE PREPARO	SIM	NÃO
B1) No local de preparo e lavagem existe água corrente tratada.	(6)	(0)
B2) É realizada alguma seleção antes da lavagem.	(6)	(0)
B3) Após a lavagem é utilizado algum produto sanitizante para desinfecção das folhas.	(6)	(0)
B4) A concentração é adequada.	(6)	(0)
B5) Após a desinfecção a alface é enxaguada.	(6)	(0)
B6) O local é próprio para o corte da alface.	(6)	(0)
B7) A superfície é lavada antes de ser utilizada.	(6)	(0)
B8) A faca está em boas condições de uso.	(6)	(0)
B9) A faca é lavada antes do corte das folhas já lavadas.	(6)	(0)
B10) O acondicionamento das folhas depois de lavadas é feito em recipientes previamente higienizados.	(6)	(0)

CAMPO D - PONTUAÇÃO DAS LANCHONETES

Equação para cálculo dos questionários de avaliação:

$$PI_n = \frac{TS_n}{K_n - TNA_n} \times P_n$$

Onde:

PI_n = pontuação da lanchonete para o ICD_n.

TS_n = somatório das notas “sim” obtidas pela lanchonete.

K_n = constante do ICD. numericamente igual ao valor máximo atribuível.

TNA_n = somatório das notas “não aplicável” obtidas pelas lanchonetes.

P_n = peso atribuído a cada ICD.

n = numeração referente a cada ICD.

ICDs AVALIADOS	SOMATÓRIO NOTAS “sim”	SOMATÓRIO NOTAS “não”	SOMATÓRIO NOTAS “N.A”
----------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

ICD-1 Edificações e instalações. higienização das instalações e abastecimento de água.

ICD-2 Equipamento e utensílios. armazenamento. controle integrado de vetores e pragas urbanas /manejo de resíduos /esgoto sanitário.

ICD-3 Manipuladores em geral e manipulador de folhas de alface.

ICD-4 Aquisição e preparo da alface.

ICD	VALORES DE K (n=1. 2. 3 e 4)
1- Edificações e instalações. higienização das instalações e abastecimento de água.	60
2- Equipamento e utensílios. armazenamento. controle integrado de vetores e pragas urbanas /manejo de resíduos /esgoto sanitário.	50
3- Manipuladores em geral e manipulador de folhas de alface	32
4- Aquisição e preparo da alface	24

conclusão

ICD	VALORES DE P (n=1. 2. 3 e 4)
1- Edificações e instalações. higienização das instalações e abastecimento de água.	10
2- Equipamento e utensílios. armazenamento. controle integrado de vetores e pragas urbanas /manejo de resíduos /esgoto sanitário.	15
3- Manipuladores em geral e manipulador de folhas de alface	20
4- Aquisição e preparo da alface	25

$$NT = PI1 + PI2 + PI3 + PI4$$

CLASSIFICAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA	PONTUAÇÃO	RESULTADO OBTIDO
Precária	0 – 39	
Deficiente	40 – 79	
Regular	80 – 119	
Boa	120 – 139	
Muito boa	140 – 157	

Os cálculos para obtenção da classificação higiênico-sanitária das lanchonetes pela aplicação dos ICDs foram baseados na metodologia apresentada na ficha de inspeção de estabelecimentos na área de alimentos da Resolução da Secretaria de Saúde – 196/98, publicada no Diário Oficial do Estado de São Paulo (SÃO PAULO, 1998)

Para calcular as notas obtidas para cada ICD, é necessária a utilização de uma constante (K) específica para cada ICD. Esse método é utilizado para não penalizar a lanchonete no caso de existir alguns itens considerados “N.A.” (não se aplica). Os valores das constantes estão mostrados na Tabela 3).

TABELA 3 – VALORES DA CONSTANTE (K) CARACTERÍSTICOS PARA CADA ICD AVALIADO

ICD	VALORES DE K (n=1, 2, 3 e 4)
n = 1	60
n = 2	50
n = 3	32
n = 4	24

FONTE: SÃO PAULO, 1998.

Os pesos (P_n) foram adotados para cada ICD conforme a relevância de cada um deles para avaliação higiênico-sanitária.

Os pesos adotados para cada ICD estão demonstrados na Tabela 4.

TABELA 4 – PESOS PARA CADA INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS PARA APLICAÇÃO NA FÓRMULA PARA CÁLCULO DE PONTUAÇÃO

ICD	PESO ESPECÍFICO P(n= 1, 2, 3 e 4)
n = 1	10
n = 2	15
n = 3	20
n = 4	25

FONTE: SÃO PAULO, 1998.

O ICD4, aquisição e preparo da alface, tem peso específico de maior valor por representar a variável mais importante de toda produção, visto que reflete a qualidade higiênico-sanitária das folhas de alface.

O menor peso foi adotado para edificações e instalações ICD1, por não influenciar diretamente a segurança e a qualidade dos alimentos, sendo muitas vezes impossível sua adequação às normas higiênico-sanitárias por possuírem estruturas antigas, falta de espaço e falta de planejamento, porém não deve ser desconsiderado.

A nota final foi calculada pelo somatório dos valores encontrados em cada um dos quatro ICDs, conforme Equação 2.

EQUAÇÃO 2 – SOMATÓRIA DAS PONTUAÇÕES DOS ICDs PARA CADA LANCHONETE

$$NT = PI1 + PI2 + PI3 + PI4$$

Onde:

NT= Nota total dos somatórios dos ICDs 1, 2, 3, e 4;

PI1= Somatório das pontuações obtidas para o ICD1;

PI2= Somatório das pontuações obtidas para o ICD2;

PI3= Somatório das pontuações obtidas para o ICD3;

PI4= Somatório das pontuações obtidas para o ICD4.

FONTE: SÃO PAULO, 1998.

Ao final de cada inspeção, a lanchonete foi classificada conforme a pontuação apresentada na Tabela 5.

TABELA 5 – CRITÉRIOS DE CLASSIFICAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DAS LANCHONETES

CLASSIFICAÇÃO	PONTUAÇÃO
Precária	0 – 39
Deficiente	40 – 79
Regular	80 – 119
Boa	120 – 139
Muito boa	140 – 157

FONTE: SÃO PAULO, 1998.

Na Tabela 5 o valor máximo alcançado por uma lanchonete recebeu a pontuação final através do resultado do somatório de cada ICD, que totalizaria no máximo 157 pontos. Para que a lanchonete não fosse prejudicada foi dado o mesmo valor de cada item julgado com as respostas “sim” (conformidade) e “não se aplica”. O valor para as respostas “não” (não conformidade) foi zero. As questões foram elaboradas de forma que as respostas em conformidade fossem as ideais para que se atingisse o valor máximo de cada ICD. Admitiu-se apenas uma resposta para cada item julgado.

Esta fase do estudo foi observacional e descritiva, na qual o contato com cada lanchonete aconteceu uma única vez durante o período pesquisado na

aplicação dos Instrumentos de Coleta de Dados. Foram utilizados os mesmos critérios em todas as lanchonetes para que houvesse padronização dos procedimentos de inspeção.

Todos os dados obtidos pelo Instrumento de Coleta de Dados foram numericamente diagnosticados através de planilhas, tabelas e gráficos sendo compiladas em um banco de dados gerado com o programa *Excel Microsoft Office versão XP home*. O Anexo 1 apresenta a aplicação de cálculo para o ICD1 obtido pela lanchonete L5, resultando no valor para este ICD.

3.2.2 Análises Microbiológicas

As análises foram realizadas utilizando a infra-estrutura do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA) da Universidade Federal do Paraná, localizado no Centro Politécnico, em Curitiba, no período de março a novembro de 2005.

A amostragem referente à higiene dos manipuladores (ME) foi feita por intermédio de contato direto das mãos com as superfícies das placas *Petrifilm* previamente hidratadas e incubadas diretamente em estufas de acordo com a temperatura e tempo de cada microrganismo-alvo.

As amostras de alface (AL e DL) e de água de lavagem (AGL) seguiram o método padrão de amostragem de análise microbiológica. As amostras AL e DL foram pesadas (25g) e transferidas para um frasco contendo 225mL de solução de água peptonada a 0,1% e levadas ao homogeneizador de pistão da marca *Stomacher® - Lab System Model 400 Bags* por 30 segundos; e foram diluídas a 10^{-3} para o processo de inoculação em placas *Petrifilm* previamente hidratadas. De cada frasco de amostra AGL foram coletados 25mL e transferidos 10 mL para 10 tubos de ensaio contendo caldo lactosado. Os tubos foram incubados a 36° C e os que apresentaram turvação e formação de

gás, foram transferidos para tubos contendo caldo verde brilhante com bile e caldo *Escherichia coli*. (APHA, 2001; 3M, 2007).

3.2.2.1 Bactérias aeróbias mesófilas

A metodologia empregada para a análise de contagem total de bactérias aeróbias ou facultativas e mesófilas presentes nas amostras de AL, de DL e de ME foi a da AOAC, método 990.12 (AOAC, 2000; 3M, 2005).

As placas Petrifilm utilizam o meio de cultura PCA, agar padrão para contagem com o indicador tetrazolium, com o tempo de incubação de 48h \pm 3h à temperatura de 35° C \pm 1° C (AOAC, 2000; 3M, 2005).

3.2.2.2 Bolores e leveduras

A metodologia empregada para a análise de contagem de bolores e leveduras presentes nas amostras de AL, de DL e de M foi a da AOAC, método 997.02 (AOAC, 2000; 3M, 2005).

As placas *Petrifilm* contêm nutrientes suplementares com clorotetraciclina, cloranfenicol na presença de fosfato de 5-bromo-4-cloro 3 indolina, com o tempo de incubação de 3 e 5 dias à temperatura de 20° C a 25° C (AOAC, 2000; 3M, 2005).

3.2.2.3 *Staphylococcus aureus*

A metodologia empregada para a análise de contagem de *S. aureus* presentes nas amostras de AL, de DL e de ME foi a da AOAC, método 2001.05 (AOAC, 2000; 3M, 2005).

As placas *Petrifilm* foram incubadas no tempo de 24h \pm 2h à temperatura de 35° C a 37° C (AOAC, 2000; 3M, 2005).

3.2.2.4 *Salmonella* sp

A metodologia empregada para a análise de pesquisa de *Salmonella* sp presentes nas amostras de alface AL e DL foi a da APHA, 2001 .

As amostras foram incubadas em três etapas. Na primeira etapa em 25g de amostra foi adicionado 225 ml de caldo lactosado e incubado no tempo de 24h a temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Na segunda etapa foi acrescentado ao caldo incubado (1ª etapa) 1 ml de tetracionato de Kauffman e 10 ml de caldo Rappaporte para 0,1 ml do caldo da 1ª etapa, esses dois meios foram incubados no tempo de 24h a temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Na terceira etapa, foi estriado em placas (plaqueamento) de Petri, preparadas com meios de cultura ágar XLD e Hectoen, foram incubados por 24h a temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (posição invertida), foi feita a leitura e apresentando colônias características essas eram submetidas aos meios de cultura LIA e TSI por 24h a temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Nas respostas positivas aplicava-se o kit de provas bioquímicas (onze provas em kit de enterobactérias).

3.2.2.5 Coliformes a 35°C (coliformes totais)

A metodologia empregada para a análise de contagem de coliformes a 35°C (coliformes totais) presentes nas amostras de AL, de DL. De M foi a da AOAC, método 991.14 e para as amostras de AGL foi a da AOAC, método 991.15 (AOAC, 2000; 3M, 2005).

As amostras de AL, de DL e de M foram utilizadas placas Petrifilm, sendo incubadas no tempo de $24\text{h} \pm 2\text{h}$ à temperatura de 35°C (AOAC, 2000; 3M, 2005).

Para as amostras de AGL foram utilizados tubos de ensaio com tampa de rosca, com tubos de Durhan invertidos, contendo o meio de cultura caldo verde brilhante, sendo incubados no tempo de 24h à temperatura de $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

3.2.2.6 Coliformes a 45° C (*E. coli*)

A metodologia empregada para a contagem de coliformes a 35° C (coliformes totais) presentes nas amostras de AL, de DL e ME foi a da AOAC, método 991.14 e para as amostras de AGL foi a da AOAC método 991.15 (AOAC, 2000; 3M, 2005).

Para as amostras de AL, de DL e de ME as análises foram em placas *Petrifilm* de contagem de coliformes a 35° C (coliformes totais), sendo incubadas no período de 24h ± 2h (total 48h ± 4h) à temperatura de 44,5° C ± 0,5° C (AOAC, 2000; 3M, 2005).

Para as amostras de AGL foram utilizados tubos de ensaio com tampa de rosca com tubos de Durham invertidos, contendo o meio de cultura caldo lauril sulfato triptose, sendo incubados em banho-maria à temperatura de 44,5° C ± 1° C por 24h.

3.2.3 Análises Parasitológicas

As análises parasitológicas foram realizadas no laboratório de Parasitologia Animal do Setor de Saúde no Centro Politécnico da UFPR no período de março de 2005 a novembro de 2005.

Para a pesquisa de parasitas tomou-se cerca de 4 g da amostra, e esta foi dispersa no próprio recipiente onde foi coletada a amostra utilizando um pouco de água. Transferiu-se o material disperso para um cálice de decantação fazendo filtrar em peneira contendo gaze. Completou-se até $\frac{3}{4}$ do volume de água e deixou-se repousar em superfície firme e livre de vibrações por no mínimo 2 horas. Retirou-se o sedimento com um canudo ou pipeta Pasteur e foi transferido para lâmina de vidro adicionando-se 2 gotas de solução de Lugol e coberto com lamínula. Observou-se no microscópio em objetiva de 10x a fim de identificarem-se ovos de parasitas no meio (REY, 2001).

3.2.4 Amostragem

A Tabela 6 apresenta o planejamento de amostragem, bem como a quantidade de análises de cada amostra.

TABELA 6 - PLANEJAMENTO DE AMOSTRAGEM E ANÁLISES NOS PONTOS DE COLETA

Fonte de coleta	Sigla	n	N° Análises	Repetições	Amostras analisadas
Lanchonete	L	11	4	1	11
Alface antes da lavagem	AL	33	6	3	99
Alface depois da lavagem	DL	33	5	3	99
Manipulador específico de alface	ME	11	5	3	33
Água de lavagem	AGL	11	2	3	33
Σ					275

NOTA: n= número de amostras; **Σ**= somatório de amostras analisadas.

3.2.4 Análise Estatística

Os resultados obtidos nas análises das amostras de alface antes da lavagem (AL) e depois da lavagem (DL) foram analisados estatisticamente em um delineamento inteiramente casualizado (DIC.), onde foram testadas as amostras de 11 lanchonetes para o conhecimento das contaminações microbiológicas, com três repetições cada, calculando-se os dados estatísticos básicos, teste de Bartlett, análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (KOEHLER, 1999; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001; BEIGUELMAN, 2002; PAGANO; GAUVREAU, 2004).

O DIC é recomendado em unidades experimentais homogêneas, ou seja, nas situações onde a variabilidade entre as unidades experimentais é mínima. Desta forma, é recomendado seu uso em ensaios realizados em laboratórios, estufas, locais onde os efeitos ambientais podem ser facilmente controlados (KOEHLER, 1999; BEIGUELMAN, 2002).

Para análise de dados cujos níveis dos tratamentos são qualitativos, recomenda-se aplicar algum tipo de procedimento de comparação múltipla. Um dos principais procedimentos de comparação múltipla é o teste de Tukey (BEIGUELMAN, 2002; PAGANO; GAUVREAU, 2004).

Para os cálculos estatísticos utilizou-se o Programa *MSTATC* da *Michigan State University* programado em sistema DOS para PC, além do Programa *STATISTICA 6.0* da *Stat Soft, Inc.* programado em sistema *Windows* para PC da *Microsoft Corporation* (MSU, 1989; STAT SOFT, 2004) (Anexos 3 a 5).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs)

As normas higiênicas exigidas muitas vezes não compreendem a realidade de uma unidade produtora de alimentos, sendo esta a maior dificuldade para a pontuação dos itens de um Instrumento de Coleta de Dados (ICDs) conforme o seu grau de importância em relação à segurança alimentar, sendo necessária a elaboração de especificações, critérios e escalas adaptadas ao ambiente inspecionado.

Na Tabela 7 apresenta-se os resultados da avaliação da análise do ICD1 que se refere às edificações e instalações, higienização das instalações e abastecimento de água.

TABELA 7 - AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS TRÊS BLOCOS (A, B, C) RELACIONADOS AO ICD 1

LOCAIS	A	B	C	SITUAÇÃO
L1	nc	nc	nc	nc
L2	cf	nc	nc	nc
L3	nc	nc	nc	nc
L4	nc	nc	nc	nc
L5	cf	cf	nc	cf
L6	nc	nc	nc	nc
L7	nc	cf	nc	nc
L8	cf	cf	nc	cf
L9	nc	nc	nc	nc
L10	nc	cf	nc	nc
L11	cf	cf	nc	cf

NOTA: A= Edificações e instalações; B= Higienização das instalações; C= Abastecimento de água; cf= conformidade; nc= não conformidade.

De acordo com a Tabela 7, das lanchonetes avaliadas no geral pelo ICD1, 27,3% apresentaram conformidade com relação a edificações e instalações, higienização das instalações e abastecimento de água.

Quando é analisado separadamente cada item do ICD1, o resultado obtido foi de 36,4% das lanchonetes que estavam em conformidade em relação a

edificações e instalações; 45,5% das lanchonetes estavam em conformidade em relação a higienização das instalações e em relação ao abastecimento de água 100,0% das lanchonetes estavam em não conformidade (Tabela 7).

Na edificação e instalação das lanchonetes foi obtido valor alto em não conformidade, 63,6%. Um dos fatores verificados é que todos os pontos comerciais das lanchonetes, anteriormente, eram estabelecimentos não destinados à comercialização de alimentos e bebidas. Os locais alojavam empresas prestadoras de serviços; lojas de sapatos, de vestuários, de armarinhos; consultório odontológico e escritório de contabilidade (Tabela 7).

E para essa mudança de ramo de atividade não foram considerados os materiais de construção próprios para um ambiente produtor de uma alimentação rápida. Como exemplo, em algumas lanchonetes foi utilizadas as divisórias da cozinha em madeira. A madeira é um material poroso, de difícil limpeza, além de ser um foco de acúmulo de resíduos físicos, químicos e biológicos.

Na higienização das instalações das lanchonetes foi obtido um fator próximo à média em conformidade e não conformidade. Um dos fatores encontrados revelou que algumas lanchonetes já estão aplicando as exigências do manual de boas práticas de fabricação solicitada pela Secretaria Municipal de Saúde de Curitiba, Departamento de Vigilância Sanitária. Como exemplo, a preocupação com a limpeza dos ambientes, cozinha, preparo e distribuição, salão de refeição, em algumas lanchonetes a frequência ocorria de forma mais do que satisfatória.

Outro fator encontrado em todas as lanchonetes foi o relacionado aos produtos para a higienização das instalações e equipamentos; que se mostraram em quantidade e diversidade adequadas. Porém, nem todas sabiam a manipulação e aplicação correta da utilização desses produtos adquiridos.

Em referência ao abastecimento de água das lanchonetes, conforme pode ser visualizado na Tabela 7, 100% dos estabelecimentos avaliados encontravam-se em não conformidade. Esse valor refere-se a falta de higienização periódica dos reservatórios de água de cada uma; visto que todas utilizam o abastecimento da rede pública. Em algumas lanchonetes, foi relatado pelos responsáveis, que não tinham conhecimento da localização de seus reservatórios de água.

A Figura 9 exemplifica não conformidade no ICD1 em relação à edificação e higienização da instalação constatou-se, por exemplo: piso inadequado em oito das onze lanchonetes pesquisadas, resultando um percentual de 72,7%, com cor escura que dificulta a visualização no processo de limpeza.



FIGURA 9 – PISO CARACTERISTICO ENCONTRADO NA MAIORIA DAS LANCHONETES
FONTE: O AUTOR, 2005

Na Tabela 8 são apresentados os resultados da avaliação da análise do ICD2, que se refere aos equipamentos e utensílios, armazenamento, controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário (Anexo 4).

TABELA 8 - AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS TRÊS BLOCOS (A, B, C) RELACIONADOS AO ICD 2

AMOSTRAS	A	B	C	SITUAÇÃO
L1	cf	cf	nc	cf
L2	nc	nc	nc	nc
L3	nc	nc	nc	nc
L4	cf	cf	nc	cf
L5	cf	cf	cf	cf
L6	nc	nc	nc	nc
L7	cf	cf	nc	cf
L8	cf	cf	nc	cf
L9	nc	nc	nc	nc
L10	cf	nc	nc	nc
L11	cf	nc	nc	nc

NOTA: A= Equipamentos e utensílios; B= Armazenamento; C= Controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário; cf= conformidade; nc= não conformidade.

Das lanchonetes avaliadas no geral pelo ICD2, 45,5% apresentaram conformidade com relação a equipamentos e utensílios, ao armazenamento, ao controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário.

Quando analisado cada item do ICD2 separadamente, o resultado obtido foi de 63,6% das lanchonetes que estavam em conformidade em relação a equipamentos e utensílios, 45,5% das lanchonetes estavam em conformidade em relação ao armazenamento. Em relação ao controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário, 90,9% das lanchonetes estavam em não conformidade.

Em relação a equipamentos e utensílios foi obtido um valor satisfatório no ICD referente a este enfoque, apresentando registros de controle de manutenção dos equipamentos, quantidade em adequação ao volume de alimentos produzidos, alimentos separados adequadamente em equipamentos de conservação e refrigeração bem como para os utensílios.

Em relação ao armazenamento de matéria-prima e de produto acabado constatou-se conformidade em 45,5% das lanchonetes pesquisadas. Essa relação foi devido ao estado do armazenamento das matérias-primas, localização, cadastramento, identificação e posicionamento em relação ao *shelf-life* (vida de prateleira).

Porém, notou-se na maioria das lanchonetes a não conformidade no item armazenamento, devido ao alimento armazenado em contato com o piso; material impróprio no ambiente, material de limpeza próximo ao estoque de alimentos, utensílios espalhados nas diversas prateleiras, alimento perecível armazenado sem refrigeração e vários produtos sem identificação, forma de uso e validade (Figuras 10 e 11).



FIGURA 10 – ARMAZENAMENTO INCORRETO DE PRODUTO PERECÍVEL (OVOS)
FONTE: O AUTOR, 2005



FIGURA 14 – ARMAZENAMENTO DE MATÉRIAS-PRIMAS E UTENSÍLIOS

NOTA: A = material de limpeza próximo a alimento; B = alimentos em contato direto com o piso; C = utensílios espalhados e sem identificação; D = material impróprio (calçados) guardado no ambiente; E = material com empilhamento inadequado; F = produto com embalagem aberta junto com embalagem fechada e sem identificação.

FONTE: O AUTOR, 2005

Em relação ao controle integrado de vetores e pragas urbanas, manejo de resíduos e esgoto sanitário, 90,9% das lanchonetes estava em não conformidade. Um dos fatores para esse percentual foi a falta de registro na maioria das lanchonetes da periodicidade de dedetização e desratização dos recintos. Sendo duas lanchonetes apresentaram os registros, porém com validade vencida. Outro fator foi a falta de telas nas janelas e nas portas para inibir a entrada de insetos e roedores.

O manejo de resíduos não era identificado; as lixeiras não continham sacos plásticos descartáveis; falta de limpeza das lixeiras (manutenção e lavagem); número e tamanho de lixeiras inadequadas para o volume de resíduos produzidos; lixeiras sem tampas; lixeiras com tampas de abertura manual; local e identificação próprio para as lixeiras; além da não separação dos resíduos.

O descarte dos resíduos não possuía um local específico na área externa das lanchonetes e com proteção adequada para posterior coleta pública.

A Figura 12 apresenta uma lixeira adequada para o manuseio em estabelecimento de alimentos. A lixeira deve conter saco plástico descartável, tampa e sua abertura por meio de pedal.



FIGURA 12 – LIXEIRA ADEQUADA PARA ESTABELECIMENTO ALIMENTÍCIO
FONTE: O AUTOR, 2005

Para o terceiro item observado de não conformidade para o ICD2, esgoto sanitário, as lanchonetes não contavam com tratamento de água e nem de esgoto, utilizando o da rede pública de abastecimento. Porém, mesmo utilizando a rede pública de abastecimento, não se observou a frequência adequada de limpeza da caixa de gordura na maioria das lanchonetes (Figura 13).



FIGURA 13 – CAIXA DE GORDURA INADEQUADA
 FONTE: O AUTOR, 2005

Na Tabela 9 apresenta-se os resultados da avaliação da análise do ICD3, que se refere aos manipuladores das lanchonetes, manipulador geral (MG) e manipulador específico (ME) (Anexo 5).

TABELA 9 - AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS DOIS BLOCOS (A, B) CONSTITUÍDOS NO ICD 3

AMOSTRAS	A	B*	SITUAÇÃO
L1	cf	cf	cf
L2	cf	cf	cf
L3	cf	nc	nc
L4	cf	cf	cf
L5	cf	cf	cf
L6	nc	cf	cf
L7	cf	cf	cf
L8	cf	cf	cf
L9	nc	nc	nc
L10	nc	nc	nc
L11	nc	nc	nc

NOTA: A= Manipulador geral; B= Manipulador específico; cf= conformidade; nc= não conformidade; *= item de maior importância para a pesquisa.

Das lanchonetes avaliadas no geral pelo ICD3, 63,6% apresentaram conformidade com relação ao MG e ME.

Quando é analisado separadamente cada item do ICD3, o resultado obtido foi de 36,4% das lanchonetes que estavam em não conformidade em relação ao MG e 63,6% das lanchonetes estavam em conformidade em relação ao ME.

Em relação ao MG houve uma uniformidade nos resultados encontrados. Porém ocorreram algumas particularidades, como exemplo, a falta de registro de exame médico ocupacional periódico. Alguns funcionários do sexo feminino apresentaram unhas cumpridas e com esmalte. Outras usavam adornos (brincos, pulseiras, anéis, colares entre outros) e em algumas lanchonetes faltava orientação aos funcionários quanto à lavagem das mãos na mudança de atividade (Figura 14).



FIGURA 14 – LIMPEZA DE PISO REALIZADA POR UM MANIPULADOR GERAL (MG) DE UMA LANCHONETE PESQUISADA
FONTE: O AUTOR, 2005

Em relação ao ME foi observado uma boa prática no manuseio da alface na maioria das lanchonetes. Este resultado condiz com os manuais de manuseio e processamento da alface, seguindo à risca as normas de exigência de higienização de hortaliças. Porém, foi detectado que em 100% das lanchonetes não utilizavam produtos sanitizantes após a lavagem das folhas de alface.

A diferença encontrada entre os MG e os ME foi que havia uma preocupação dos ME em relação a higienização das mãos, bem como na mudança de cada procedimento aplicado na alface; somente mudavam de atividade após o término do término da lavagem das folhas de alface necessárias ao período em que estas seriam utilizadas no preparo de sanduíches.

A Tabela 10 apresenta os resultados da avaliação da análise do ICD4; aquisição e forma de preparo da alface. As aquisições de alface pelas lanchonetes foram em supermercados. A forma de preparo refere-se a classificação, ao desfolhamento, a lavagem unitária das folhas e ao armazenamento.

TABELA 10 - AVALIAÇÃO DAS ONZE LANCHONETES PARA OS DOIS BLOCOS (A, B) CONSTITUÍDOS NO ICD 4

AMOSTRAS	A	B*	SITUAÇÃO
L1	nc	cf	cf
L2	cf	nc	nc
L3	cf	nc	nc
L4	nc	cf	cf
L5	cf	cf	cf
L6	cf	cf	cf
L7	cf	cf	cf
L8	nc	nc	nc
L9	cf	cf	cf
L10	cf	cf	cf
L11	cf	nc	nc

NOTA: A= Aquisição da alface; B= Forma de preparo; cf= conformidade; nc= não conformidade; *= item de maior importância para a pesquisa.

Das lanchonetes avaliadas no geral pelo ICD4, 36,4% apresentaram conformidade com relação à aquisição da alface e forma de preparo.

Quando é analisado separadamente cada item do ICD4, o resultado obtido foi de 72,7% das lanchonetes que estavam em conformidade em relação à aquisição da alface e 63,6% das lanchonetes estavam em conformidade em relação à forma de preparo.

Em relação à aquisição da alface foi detectada irregularidade, como exemplo, após a compra das alfaces, essas não são conservadas sob refrigeração até o momento do preparo. Quanto ao procedimento de preparo foi observado itens em não conformidades como: facas de corte da alface são de uso geral; não fazem sanitização nas alfaces; o local da lavagem e manuseio e os recipientes de armazenamento da alface não sofrem prévia higienização.

Em relação à forma de preparo, tanto na higienização da alface quanto no preparo dos sanduíches, foi verificado uma boa prática de fabricação. Com exceção, no processo de sanitização a falta de desinfecção das folhas por um sanetizante.

Ainda no preparo constatou-se que utilizam uma quantidade suficiente de água na lavagem das folhas de alface; sob água corrente e tratada; uma boa percepção na retirada das irregularidades das alfaces (deterioração, lesões, descoloração, queimada, ferrugem e integridade da folha).

A pontuação da lanchonete, na avaliação dos ICDs obteve a classificação de acordo com o Quadro 3.

QUADRO 3 – CLASSIFICAÇÃO DAS LANCHONETES DE ACORDO COM A AVALIAÇÃO DOS QUATRO (4) ICDs APLICADOS

LANCHONETES	PONTUAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
L1	89	regular
L2	65	deficiente
L3	63	deficiente
L4	87	regular
L5	128	boa
L6	64	deficiente
L7	72	deficiente
L8	87	regular
L9	58	deficiente
L10	67	deficiente

L11

65

deficiente

NOTA: A classificação segue a seguinte seqüência: precária = 0 a 39; deficiente = 40 a 79; regular = 80 a 119; boa = 120 a 139 e muito boa = 140 a 157.

A classificação de cada lanchonete deveria atingir pontuação mínima de 120 pontos e máxima de 157 pontos de conformidade. Para as lanchonetes que se encontram abaixo da pontuação mínima de classificação, geralmente possuem de 30% a 45% de irregularidades apresentadas nos ICDs.

Nenhuma das lanchonetes foi avaliada dentro da classificação “precária” e “muito boa”. A lanchonete que obteve maior pontuação na aplicação dos quatro ICDs foi a L5, o que apresentou situações favoráveis em virtude da recente aplicação das reformas e orientações da vigilância sanitária; ainda, foram detectados os melhores aspectos nas áreas físicas, equipamentos e utensílios adequados. A L5 acatou todos os tópicos de alterações relacionados pelo relatório da fiscalização.

As L1, L4, L8 e L11 obtiveram classificação “regular”, pois apesar de existirem áreas separadas na planta do processo de produção como: recebimento das matérias-primas, área e distribuição dos alimentos na dispensa, área de pré-preparo e preparo de alimentos, as condições de partes de algumas instalações, equipamentos e utensílios e o fluxo observado dos funcionários em alguns procedimentos de elaboração de alimentos, mostraram-se em desacordo com as normas das boas práticas.

As L2, L3, L6, L7, L9 e L10 com classificação “deficiente” apresentaram incompatibilidade entre o espaço físico de preparação de alimento com o volume de produção de alimentos comercializados no local, comprometendo de maneira direta a qualidade e segurança higiênico-sanitária dos produtos oferecidos aos usuários nestas lanchonetes.

4.2 Avaliação Microbiológica

4.2.1 Alface Antes da Lavagem (AL)

A Tabela 11 apresenta os resultados das análises para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas em AL.

TABELA 11 - CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES (10 ⁶ UFC/g)			$\Sigma x \cdot 10^7$ UFC/g	\bar{x} (x 10 ⁶)	s ²
	I	II	III			
AL1	2,0	8,2	6,4	1,66	5,53	10,173
AL2	4,8	5,0	3,6	1,34	4,46	0,573
AL3	8,4	4,4	3,2	1,60	5,33	7,413
AL4	5,6	8,2	6,6	2,04	6,80	1,720
AL5	4,4	6,3	8,0	1,87	6,23	3,243
AL6	6,1	4,8	8,2	1,91	6,36	2,943
AL7	4,6	5,6	7,0	1,72	5,73	1,453
AL8	6,4	8,2	6,8	2,14	7,13	0,893
AL9	6,0	4,8	8,8	1,96	6,53	4,213
AL10	5,6	4,4	7,2	1,72	5,73	1,973
AL11	6,5	5,4	3,8	1,57	5,23	1,843

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s²= variância.

Verifica-se a variância dos resultados se é ou não homogênea, de acordo com o qui-quadrado do teste de Bartlett.

A condição “*sine qua non*” para submeter amostras a uma análise de variância (ANOVA) é a de que não variem significamente. Torna-se fundamental que, antes de tal análise, se faça um teste de homogeneidade das variâncias. O teste apropriado é o teste de Bartlett, o qual indica, mediante o teste de qui-quadrado, se existe ou não diferença estatisticamente significativa das amostras analisadas.

No teste de Bartlett têm-se duas hipóteses, ou seja, H_0 : as amostras são homogêneas; e H_1 : as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra AL em contagem total de bactérias aeróbias mesófilas mostra o qui-quadrado calculado de 6,127, logo, a hipótese H_0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, já que são onze tratamentos ao nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas.

A Tabela 12 apresenta a análise de variância para as amostras de AL.

TABELA 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BACTÉRIAS AEROBIAS MESÓFILAS EM AL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F_{amostras}	$F_{(10;22)}$	
					5%	1%
Tratamentos	10	18,202	1,820	0,549 ^{ns}	2,30	3,26
Erro Experimental	22	72,887	3,313			
Total	32	91,089				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo no nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Como pode ser observado na Tabela 12, o valor de $F_{\text{calculado}} = 0,549 < F_{(10; 22; 5\%)} = 2,30$, não existe diferença significativa entre as médias dos tratamentos.

Como a análise está objetivada nas onze amostras de AL, não há a necessidade do teste de Tukey, pois não existe diferença estatisticamente significativa no nível de 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

A Tabela 13 apresenta os resultados das análises para contagem de bolores e leveduras em AL.

TABELA 13 - CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES (x10 ³ UFC/g)			Σ x10 ³ UFC/g	\bar{x} (x10 ³)	s ²
	I	II	III			
AL1	3,8	7,3	6,1	17,2	5,73	46,991
AL2	4,2	6,4	2,6	13,2	4,40	29,453
AL3	5,6	4,4	6,2	16,2	5,00	39,720
AL4	6,6	8,4	8,0	23,0	7,66	79,264
AL5	5,8	7,5	6,4	19,7	6,56	58,238
AL6	8,2	4,8	7,6	20,6	6,86	66,161
AL7	4,6	7,6	5,8	18,0	6,00	50,280
AL8	8,0	8,5	6,8	23,3	7,76	81,191
AL9	8,6	5,8	6,8	21,2	7,06	68,597
AL10	4,6	8,8	7,4	20,8	6,93	68,668
AL11	6,1	4,8	8,4	19,3	6,43	58,507

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s² = variância.

Por meio da Tabela 13 verifica-se a variância dos resultados se é ou não homogênea, de acordo com o qui-quadrado do teste de Bartlett.

No teste de Bartlett têm-se duas hipóteses, em que H0 as amostras são homogêneas e H1 as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra AL em contagem de bolores e leveduras mostra o qui-quadrado calculado de 3,779, logo, a hipótese H0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, já que são onze tratamentos ao nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas, logo os dados foram submetidos a análise de variância.

A Tabela 14 apresenta a análise de variância para as amostras de AL em contagem de bolores e leveduras.

TABELA 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE A CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F _{amostras}	F _(10,22)	
					5%	1%
Tratamentos	10	30,105	3,011	1,297 ^{*ns}	2,30	3,26
Erro Experimental	22	51,053	2,321			
Total	32	81,159				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo no nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Os valores de $F_{(10; 22; 5)} = 2,30$; como o valor de $F_{amostras}$ das AL é igual 1,297, menor que o valor de $F_{(10; 22; 5)}$, a hipótese H_0 é aceita e conclui-se que não existe diferença entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade.

Para a contagem de *S. aureus* e *Salmonella* sp em AL não foi detectado a presença desses microrganismos nas amostras analisadas.

Para a contagem de coliformes a 35° C (coliformes totais) em AL foram detectados valores ≥ 2400 UFC/g, em todas as amostras analisadas.

A Tabela 15 apresenta os resultados das análises para contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) em AL.

TABELA 15 - CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (*E. coli*) EM AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES ($\times 10^2$ UFC/g)			$\Sigma x \times 10^2$ UFC/g	\bar{x} ($\times 10^2$)	s ²
	I	II	III			
AL1	1,3	1,8	2,1	5,2	1,7	0,163
AL2	2,2	1,6	1,4	5,2	1,7	0,173
AL3	2,4	1,2	1,6	5,2	1,7	0,373
AL4	2,8	1,6	2,2	6,6	2,2	0,360
AL5	2,6	1,4	2,3	6,3	2,1	0,390
AL6	2,8	2,4	2,0	7,2	2,4	0,160
AL7	2,6	2,2	1,8	6,6	2,2	0,160
AL8	2,8	1,6	2,4	6,8	2,3	0,373
AL9	2,6	1,8	2,0	6,4	2,1	0,173
AL10	1,8	2,2	1,6	5,6	1,9	0,093
AL11	2,4	2,8	2,2	7,4	2,5	0,093

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s²= variância.

Por meio da Tabela 15 verifica-se a variância dos resultados se é ou não homogênea, de acordo com o qui-quadrado do teste de Bartlett, em que H₀ as amostras são homogêneas e H₁ as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra AL em contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) mostra o qui-quadrado calculado de 2,403, logo, a hipótese H₀ é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, no nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas.

Na Tabela 16 é apresentada a análise de variância para as amostras de AL em contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*).

TABELA 16 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE A CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (*E. coli*) EM AL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F _{amostras}	F _(10;22)	
					5%	1%
Tratamentos	10	2,174	0,217	0,951 ^{*ns}	2,30	3,26
Erro Experimental	22	5,027	0,228			
Total	32	7,201				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo no nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Os valores de $F_{(10; 22; 5)} = 2,30$; como o valor de $F_{amostras}$ das AL é igual 0,951, consideravelmente menor que o valor de $F_{(10; 22; 5)}$, a hipótese H₀ é aceita e conclui-se que não existe uma média dos tratamentos diferente; não há a necessidade do teste de Tukey, onde mostrou por análise ANOVA não existe diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$).

4.2.2 Alface Depois da Lavagem (DL)

Na Tabela 17 são apresentados os resultados das análises para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas em DL.

TABELA 17 - CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES ($\times 10^4$ UFC/g)			$\Sigma \times 10^4$ UFC/g	\bar{x} ($\times 10^4$)	s^2
	I	II	III			
DL1	6,4	8,1	8,8	23,3	7,76	1,523
DL2	9,0	7,8	8,0	24,8	8,26	0,413
DL3	5,2	6,8	8,2	20,2	6,73	2,253
DL4	4,8	8,8	8,6	22,2	7,40	5,080
DL5	4,6	5,2	6,2	16,0	5,33	0,653
DL6	8,0	9,4	7,4	24,8	8,26	1,053
DL7	9,2	7,6	5,6	22,4	7,46	3,253
DL8	4,8	6,6	8,0	19,4	6,46	2,573
DL9	5,8	7,6	7,0	20,4	6,80	0,840
DL10	8,2	7,8	9,8	25,8	8,60	1,120
DL11	6,3	8,4	6,6	21,3	7,10	1,290

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s^2 = variância.

Por meio da Tabela 17 verifica-se a variância dos resultados se é ou não homogênea, de acordo com o qui-quadrado do teste de Bartlett, em que H_0 as amostras são homogêneas e H_1 as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra DL em contagem de bactérias aeróbias mesófilas mostra o qui-quadrado calculado de 4,545, logo, a hipótese H_0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, ao nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas, logo os dados foram submetidos a análise de variância.

A Tabela 18 apresenta a análise de variância para as amostras em DL em contagem de bactérias aeróbias mesófilas.

TABELA 18 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE A CONTAGEM DE BACTÉRIAS AEROBIAS MESÓFILAS EM DL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F _{amostras}	F _(10;22)	
					5%	1%
Tratamentos	10	26,961	2,696	1,479 ^{*ns}	2,30	3,26
Erro Experimental	22	40,107	1,823			
Total	32	67,067				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo no nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Como o valor de $F_{(10; 22; 5)} = 2,30 > F_{amostras} = 1,479$, ou seja $F_{tabelado} > F_{calculado}$, aceita-se a hipótese H_0 , e conclui-se que não existe diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$).

A Tabela 19 apresenta os resultados das análises para contagem de bolores e leveduras em DL.

TABELA 19 - CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES ($\times 10^3$ UFC/g)			$\Sigma \times 10^3$ UFC/g	\bar{x} ($\times 10^3$)	s^2
	I	II	III			
DL1	3,2	6,2	8,4	16,6	5,533	10,173
DL2	4,4	5,8	8,0	13,4	4,467	0,573
DL3	6,2	6,4	8,8	16,0	5,333	7,413
DL4	4,6	6,8	6,4	20,4	6,800	1,720
DL5	6,6	5,8	4,2	18,7	6,233	3,243
DL6	8,9	6,1	4,2	19,1	6,367	2,943
DL7	7,6	8,8	9,2	17,2	5,733	1,453
DL8	6,0	4,8	5,6	21,4	7,133	0,893
DL9	9,2	8,4	8,2	19,6	6,533	4,213
DL10	9,6	8,8	8,1	17,2	5,733	1,973
DL11	5,6	9,8	7,8	15,7	5,233	1,843

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s^2 = variância.

Por meio da Tabela 19 verifica-se a variância dos resultados se é ou não homogênea, de acordo com o qui-quadrado do teste de Bartlett, em que H_0 as amostras são homogêneas e H_1 as amostras não são homogêneas.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra DL em contagem de bolores e leveduras mostra o qui-quadrado calculado de 6,127, logo, a hipótese H_0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, ao nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas.

Na Tabela 20 apresenta a análise de variância para as amostras de DL em bolores e leveduras.

TABELA 20 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM DL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F_{amostras}	$F_{(10;22)}$	
					5%	1%
Tratamentos	10	18,202	1,820	0,549 ^{*ns}	2,30	3,26
Erro Experimental	22	72,887	3,313			
Total	32	91,089				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo no nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

O valor de $F_{(10; 22)}$ para $\alpha = 0,05$ é 2,30; como o valor de F_{amostras} das amostras DL é igual 0,549, consideravelmente menor que o valor de $F_{(10;22)}$ no nível de 5% de significância. A hipótese H_0 é aceita e conclui-se que não existe diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade

A Tabela 21 apresenta os resultados das análises para contagem de coliformes a 35° C em DL.

TABELA 21 - CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C NAS AMOSTRAS DE FOLHAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES (10 ² UFC/g)			Σ10 ² UFC/g	\bar{x} (x 10 ²)	s ²
	I	II	III			
DL1	4,6	8,9	8,0	21,5	7,167	5,143
DL2	6,4	8,6	6,1	21,1	7,033	1,863
DL3	5,6	4,8	8,2	18,6	6,200	3,160
DL4	6,8	8,4	8,0	23,2	7,733	0,693
DL5	4,4	6,2	4,8	15,4	5,133	0,893
DL6	≥24	≥24	≥24	----	----	----
DL7	≥24	≥24	≥24	----	----	----
DL8	6,4	8,2	6,0	20,6	6,867	1,373
DL9	≥24	≥24	≥24	----	----	----
DL10	≥24	≥24	≥24	----	----	----
DL11	≥24	≥24	≥24	----	----	----

NOTA: Σ= somatória; \bar{x} = média; s²= variância; = ≥2400

O resultado do teste de Bartlett para a amostra DL em contagem de coliformes a 35° C (coliformes totais) mostra o qui-quadrado calculado de 2,425, logo, a hipótese H0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, ao nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas, logo os dados foram submetidos a análise de variância.

A Tabela 22 apresenta a análise de variância para as amostras de DL em contagem de coliformes a 35° C (coliformes totais).

TABELA 22 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE À CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C EM DL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F _{amostras}	F _(5;12)	
					5%	1%
Tratamentos	10	2464,267	246,426	206,5**	2,30	3,26
Erro Experimental	22	26,23	1,193			
Total	32	2490,521				

NOTA: ns = não significativo; * = significativo ao nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Na Tabela 22 pode-se observar que existem diferenças significativas com relação à contagem de coliformes a 35°C nas amostras em DL, sendo o valor de F calculado maior que o valor de F tabelado. Como o teste de F mostrou que pelo menos uma das médias é diferente estatisticamente aplicou-se o teste de Tukey para identificar qual das médias difere estatisticamente, que consta na Tabela 23.

TABELA 23 – APLICAÇÃO DAS MÉDIAS DA CONTAGEM DE COLIFORMES A 35° C EM DL PELO TESTE DE TUKEY

Amostras	Médias dos Tratamentos
DL1	7.167 ^b
DL2	7,033 ^b
DL3	6,200 ^b
DL4	7,733 ^b
DL5	5,133 ^b
DL6	2400 ^a
DL7	2400 ^a
DL8	6,867 ^b
DL9	2400 ^a
DL10	2400 ^a
DL11	2400 ^a

Médias seguidas das mesmas letras na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey no nível 5% de significância. Médias não seguidas de letras diferentes não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey no nível de 5%. A Tabela 23 apresenta os resultados das análises para contagem de coliformes a 35° C em DL.

A Tabela 23 mostra a sumarização dos resultados obtidos nas comparações das médias pelo teste de Tukey da contagem de coliformes a 35°C. Nesse sentido, os menores valores de redução para coliformes a 35°C durante o processamento de lavagem foram eficiente para as amostras de alface DL1, DL2,

DL3, DL4, DL5 e DL8. Não apresentando alteração nos valores iniciais de contaminantes (≥ 2400 UFC/g) nas amostras DL6, DL7, DL9, DL10 e DL11.

A Tabela 24 apresenta os resultados da contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*); porém com estes resultados não diz se a variância é homogênea ou não. Para isto foi calculado o teste de Bartlett.

TABELA 24 - CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C (*E. coli*) EM AMOSTRAS DE ALFACE DEPOIS DA LAVAGEM (DL)

AMOSTRAS	REPETIÇÕES ($\times 10^2$ UFC/g)			$\Sigma \times 10^2$ UFC/g	\bar{x} ($\times 10^2$)	s^2
	I	II	III			
DL1	0,80	0,60	0,95	2,35	0,783	0,031
DL2	1,00	0,84	0,88	2,72	0,907	0,007
DL3	0,90	0,85	1,00	2,75	0,917	0,006
DL4	0,86	0,94	0,76	2,56	0,853	0,008
DL5	0,60	0,68	0,82	2,10	0,700	0,012
DL6	1,60	1,30	1,80	4,70	1,567	0,063
DL7	1,10	0,80	1,00	2,90	0,967	0,023
DL8	0,84	1,20	0,92	2,96	0,987	0,036
DL9	1,10	0,80	0,84	2,74	0,913	0,027
DL10	1,80	1,60	1,30	4,70	1,567	0,063
DL11	1,00	0,80	1,80	3,60	1,200	0,280

NOTA: Σ = somatória; \bar{x} = média; s^2 = variância.

O resultado do teste de Bartlett para a amostra DL em contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) mostra o qui-quadrado calculado de 12,661, logo, a hipótese H_0 é verdadeira, visto que o qui-quadrado tabelado é 18,307 que corresponde a 10GL, no nível de 5% de probabilidade. Como não se encontra evidência de que a hipótese de nulidade seja falsa, conclui-se que as variâncias são homogêneas e os dados foram submetidos a análise de variância, que consta na Tabela 25.

TABELA 25 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA REFERENTE A CONTAGEM DE COLIFORMES EM AMOSTRAS DE ALFACE A 45° C EM DL

Fonte de variância	Graus de Liberdade (GL)	Soma de Quadrados (SQ)	Quadrado Médio (QM)	F _{amostras}	F _(10;22)	
					5%	1%
Tratamentos	10	2,560	0,256	5,061**	2,30	3,26
Erro Experimental	22	1,113	0,051			
Total	32	3,673				

NOTA: * = significativo ao nível de 5% de probabilidade; ** = significativo no nível de 1% de probabilidade.

Os valores de $F_{(10;22)}$ para $\alpha = 0,05$ é 2,30; como o valor de $F_{amostras}$ das amostras DL é igual 5,061, maior que o valor de $F_{(10;22)}$ no nível de 5% de significância, a hipótese H_1 é aceita e conclui-se que existe pelo menos uma média dos tratamentos diferente; logo, há a necessidade do teste de Tukey, para verificar qual dos tratamentos diferem ao nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

A Tabela 26 apresenta a análise das médias da contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) em DL pelo teste de Tukey.

TABELA 26 – APLICAÇÃO DAS MÉDIAS DA CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C EM DL PELO TESTE DE TUKEY

Amostras	Médias dos Tratamentos
DL1	0,783 ^c
DL2	0,907 ^{bc}
DL3	0,917 ^{bc}
DL4	0,853 ^{bc}
DL5	0,700 ^c
DL6	1,567 ^a
DL7	0,967 ^{bc}
DL8	0,987 ^{bc}
DL9	0,913 ^{bc}
DL10	1,567 ^a
DL11	1,200 ^{ab}

Médias seguidas das mesmas letras na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey no nível 5% de significância. Médias não seguidas de letras diferentes não apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey no nível de 5%.

A média dos tratamentos mostrou a suscetibilidade na lavagem das folhas quanto à eliminação e/ou redução da contagem de coliformes a 45°C. Nesse

sentido, os menores valores de redução para coliformes a 45°C durante o processamento de lavagem foram eficiente para as amostras de alface DL1 e DL5.

4.2.3 Comparativo de Contaminantes Microbiológicos nas Lanchonetes entre AL e DL

Para o comparativo de contaminantes microbiológicos nas lanchonetes entre as amostras AL e DL, submeteu-se os resultados das análises em um tratamento estatístico utilizando o D.I.C.

A Figura 15 apresenta a comparação das lanchonetes em relação à contagem total de bactérias aeróbias mesófilas nas amostras AL e DL.

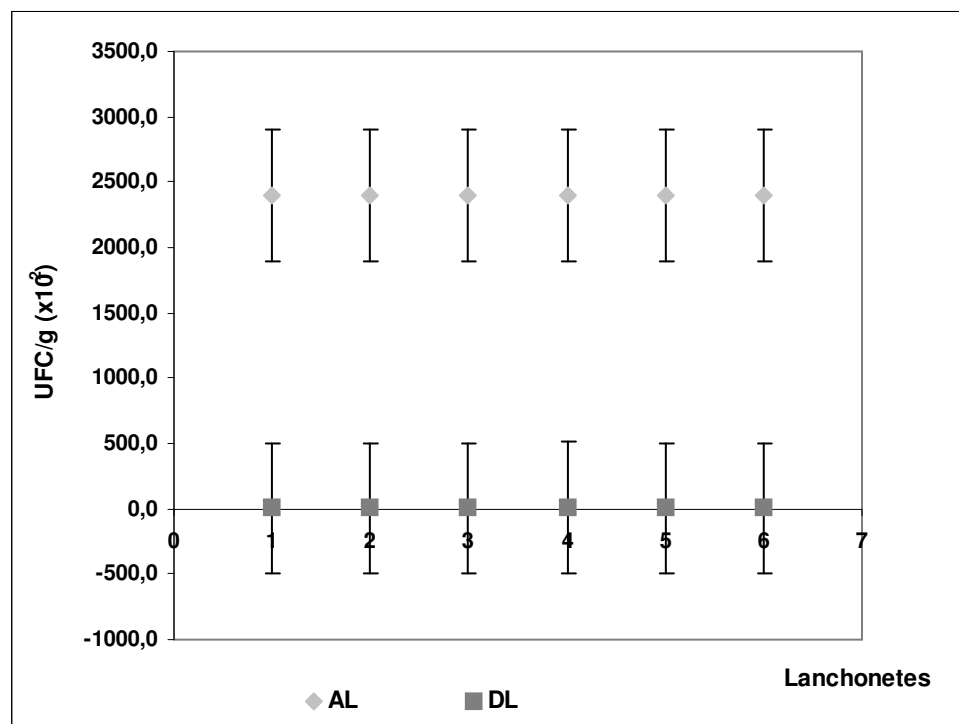


FIGURA 15 – COMPARATIVA DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DE LAVADAS (AL) E DEPOIS DE LAVADAS (DL)

A Figura 15 mostra a redução na contagem de total de bactérias aeróbias mesófilas em 10^2 UFC/g entre AL e DL, porém, ainda apresentando uma

contaminação de valor alto para bactérias aeróbias mesófilas resultando 10^4 UFC/g nas amostras DL, apesar de não existir valores de contagens máximas para este grupo de microrganismos na legislação vigente.

Segundo Franco; Landgraf (2005), a contagem de bactérias aeróbias mesófilas é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo que os patógenos estejam ausentes e que não tenham ocorrido alterações nas condições sensoriais do alimento, um número elevado de microrganismos indica que o alimento é insalubre.

A Figura 15 ainda permite verificar que mesmo obtendo esta redução, a contaminação das amostras DL permanece curvilínea e paralela às amostras AL, ocorrendo uma similaridade na redução.

Como nenhuma das lanchonetes utiliza sanitizante, verifica-se uma preocupação com os resultados obtidos, onde as alfaces agregaram um maior teor de umidade, bem como de atividade de água. Os resultados foram de acordo com a contagem de total de bactérias aeróbias mesófilas sob a forma vegetativa, a contaminação poderia ser maior se fosse feita uma contagem de esporulados. Além do que existe um fator favorável a crescimento bacteriano, já que a alface é adicionada aos sanduíches quentes, chegando a uma temperatura ótima de crescimento entre 34°C a 38°C (JEMRA, 2007).

A Figura 16 apresenta a comparação das lanchonetes em relação à contagem de bolores e leveduras nas amostras AL e DL.

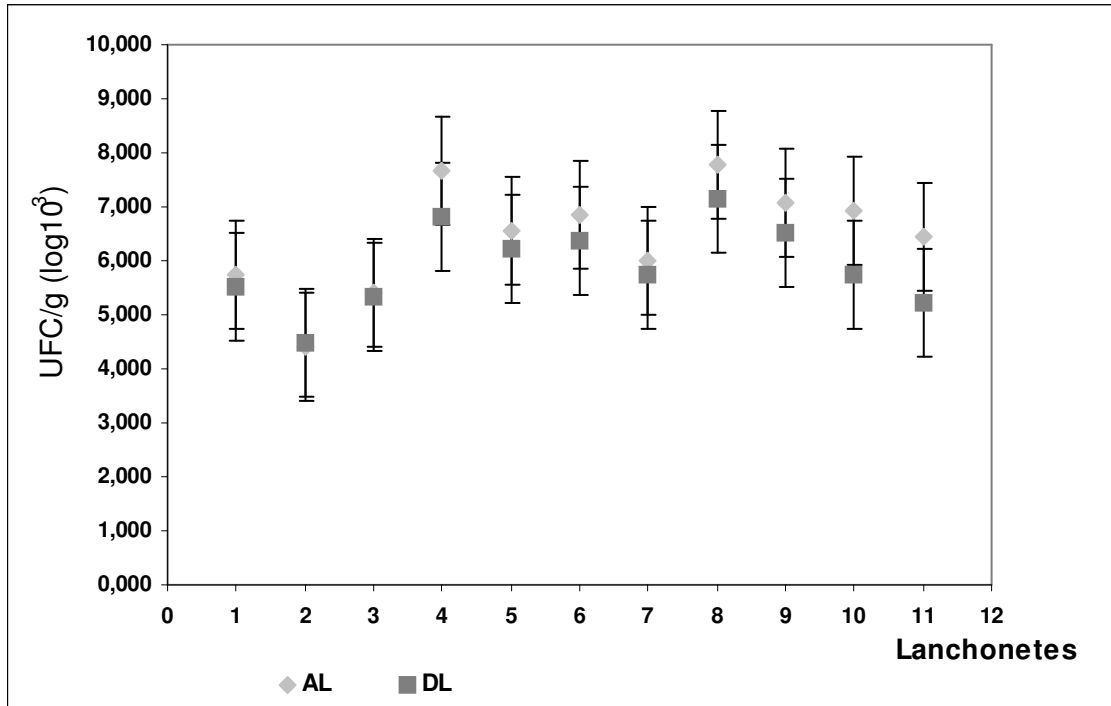


FIGURA 16 – COMPARATIVO DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DA LAVAGEM (AL) E DEPOIS DA LAVAGEM (DL)

As contagens de bolores (fungos filamentosos) e de leveduras (fungos leveduriformes) fornecem várias informações, como por exemplo, as condições higiênicas precárias nos utensílios de manuseio das amostras DL. A Figura 19 mostra que não houve redução de contaminação entre as amostras AL e DL, sendo que em algumas continuaram com a fase de latência (fase lag) e a fase de crescimento estacionária, aguardando um fator favorável para passar para a fase de crescimento exponencial (fase log).

Os bolores estão bem difundidos na natureza, estão presentes no solo, no ar, na água e em material orgânico em decomposição. As leveduras apesar de estarem bem difundidas na natureza, mas a sua contaminação necessita de ajuda de vetores como insetos, animais, ar e suas correntes, entre outros. A Figura 19 apresenta a necessidade da utilização do sanitizante, mesmo a água corrente vinda da rede pública de abastecimento, com um pH alcalino, não obteve uma redução desejável, continuou desfavorável para um alimento saudável.

Baixas contagens de bolores e leveduras são normais em alimentos *in natura* e congelados, não sendo, portanto, significativas. Somente quando o crescimento de bolor for visível ou o alimento apresentar um número elevado de leveduras, o consumidor será capaz de reconhecer a deterioração, mesmo assim, esta deterioração por leveduras não é prejudicial à saúde, porque o crescimento de bolores e leveduras é mais lento do que o de bactérias em alimentos apresentando alto valor de atividade de água (FRANCO; LANDGRAF, 2005; JAY, 2005).

A Figura 17 apresenta a comparação das lanchonetes em relação à contagem de coliformes a 45° C (*E. coli*) nas amostras AL e DL.

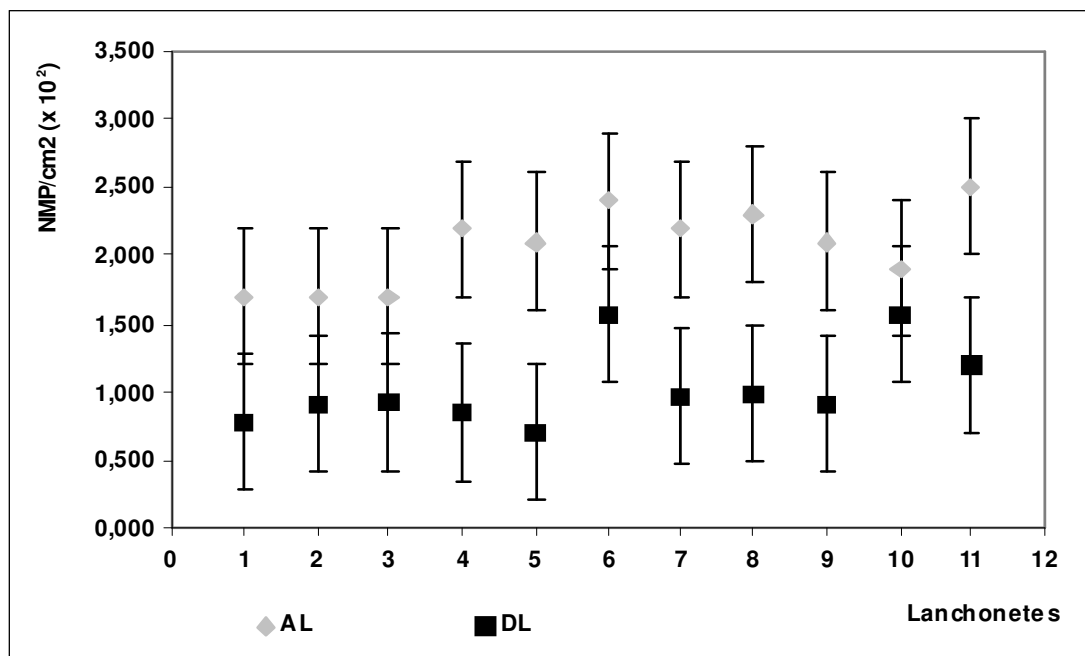


FIGURA 17 – COMPARATIVA DAS LANCHONETES EM RELAÇÃO À CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANTES DE LAVADAS (AL) E DEPOIS DE LAVADAS (DL)

Na figura 17 verifica-se que a lavagem das alfaces não foi capaz de promover a redução necessária para contaminação por coliformes a 45° C.

Os coliformes a 45° C não são usualmente patogênicos, mas algumas linhagens podem ser. A sua importância principal é devido ao fato de serem bons indicadores de contaminação fecal nos alimentos.

Na classe coliformes a 45° C, encontram-se os gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia*. Os três primeiros são encontrados em matéria fecal e podem sobreviver por tempos variáveis em outros habitats, como exemplo, o solo, a superfície de vegetais, de hortaliças, entre outros; ao passo que *Escherichia*, particularmente, *E. coli*, tem seu habitat exclusivo no trato intestinal dos animais e seres humanos. Para avaliar a higiene sanitária das lanchonetes foi selecionado como indicador a *E. coli* (FORSYTHE, 2002).

4.2.4 Manipuladores

A Tabela 27 apresenta as contagens microbiológicas das mãos dos manipuladores das alfaces (ME).

Amostras	Bactérias Aeróbias Mesófilas (UFC/cm ²)	Bolores e Leveduras (UFC/cm ²)	<i>S. aureus</i> (UFC/cm ²)	<i>Salmonella</i> (UFC/CM ²)	Coliformes a 35°C (NMP/cm ²)	Coliformes a 45°C (<i>E. coli</i>) (NMP/cm ²)
ME1	1,4 x 10 ³	3,6 x 10 ²	2,0 x 10 ²	ausência	2,6 x 10 ²	1,4 x 10 ²
ME2	1,6 x 10 ³	4,5x 10 ²	3,0 x 10 ²	ausência	2,8 x 10 ²	1,8 x 10 ²
ME3	2,0 x 10 ³	4,0 x 10 ²	3,3 x 10 ²	ausência	3,0 x 10 ²	1,6 x 10 ²
ME4	1,5 x 10 ³	3,2 x 10 ²	2,2 x 10 ²	ausência	2,8 x 10 ²	1,4 x 10 ²
ME5	1,2 x 10 ³	2,8 x 10 ²	1,4 x 10 ²	ausência	2,0 x 10 ²	1,2 x 10 ²
ME6	1,6 x 10 ³	4,4 x 10 ²	4,6 x 10 ²	ausência	4,0 x 10 ²	1,6 x 10 ²
ME7	1,8x 10 ³	4,0 x10 ²	4,8 x 10 ²	ausência	4,3 x 10 ²	2,0 x 10 ²
ME8	1,5 x 10 ³	3,0 x 10 ²	3,5 x 10 ²	ausência	3,0 x 10 ²	1,8 x 10 ²
ME9	1,9 x 10 ³	4,0 x 10 ²	3,8 x 10 ²	ausência	3,8 x 10 ²	1,4 x 10 ²
ME10	2,2 x 10 ³	5,0 x 10 ²	3,1 x 10 ²	ausência	4,6 x 10 ²	2,2 x 10 ²
ME11	2,1 x 10 ³	3,3 x 10 ²	3,6 x 10 ²	ausência	3,8 x 10 ²	1,4 x 10 ²

NOTA: UFC = unidade formadora de colônias; NMP= número mais provável; cm² = centímetro quadrado; g = grama.

TABELA 27 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM ME DE MÃOS DOS MANIPULADORES ESPECÍFICOS (ME) VINCULADOS À PRÁTICA DO PREPARO DE ALFACE PARA O PREPARO DE SANDUÍCHES

A Tabela 27 apresenta os resultados das análises microbiológicas das mãos do manipulador após contato com folhas antes de lavar. A contagem caracterizou a carga microbiana para seis indicadores higiênicos.

A carga microbiológica encontrada nas mãos do manipulador das folhas de alface pode comprometer a qualidade e a segurança do produto através do incremento da contagem inicial de microrganismos presentes nas mãos e que pode ser somado à carga microbiológica da alface durante o manuseio. Não existe na legislação brasileira um padrão microbiológico para as mãos de manipuladores, sendo apresentados alguns padrões definidos por pesquisadores.

Segundo Oliveira *et al.* (2002), nas mãos podem apresentar mais de 250 tipos de microrganismos, entre deterioradores e os potencialmente patogênicos.

A Figura 18 apresenta a contaminação microbiológica realizada nas mãos dos manipuladores de alface (ME).

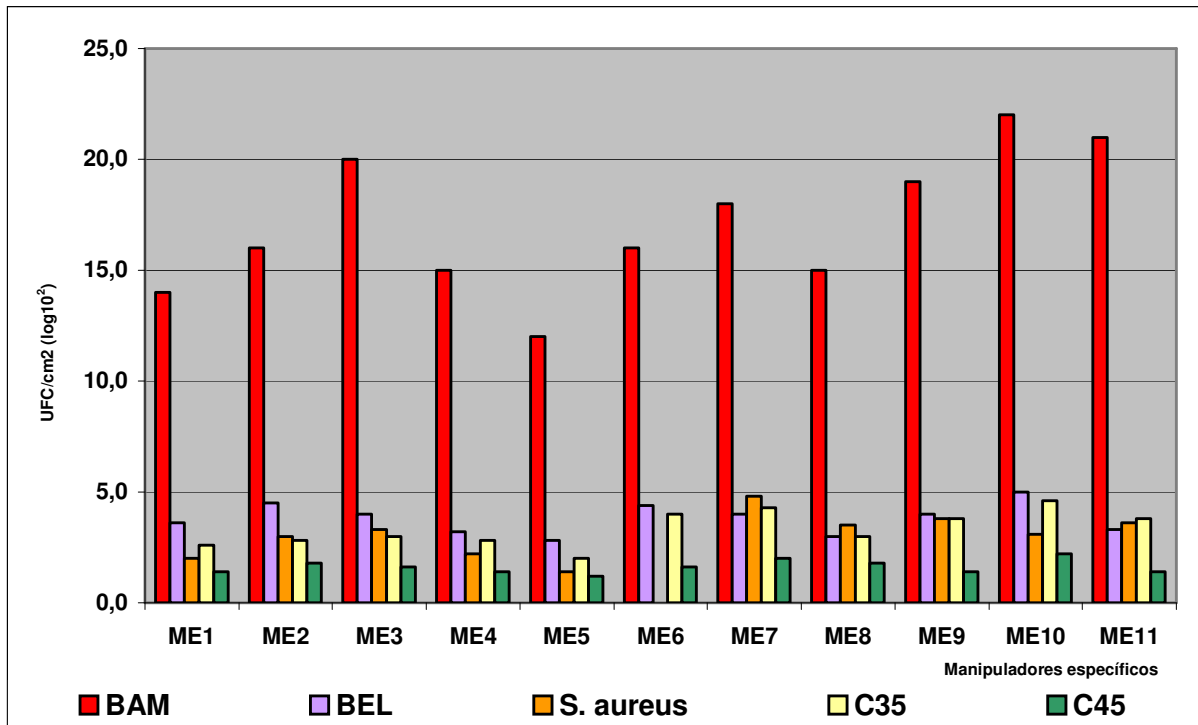


FIGURA 18 – CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA NAS AMOSTRAS DE MANIPULADORES DE ALFACE (ME) NAS LANCHONETES PESQUISADAS PARA: AERÓBIOS MESÓFILOS (BAM), BOLORES E LEVEDURAS (BEL), *S. AUREUS*, COLIFORMES A 35°C (C35) E 45°C (C45).

Na Figura 18, pode-se verificar que na contagem para bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, coliformes a 35°C e 45°C nas mãos de manipuladores de alface, apresentou perfil similar para todas as lanchonetes avaliadas. Para a avaliação do grau de contaminação de bactérias aeróbias mesófilas, esta contagem é comumente empregada como indicação de qualidade na produção de alimentos.

Quando comparados os valores obtidos nas amostras das mãos com o padrão estabelecido por Andrade *et al.* (2003), para mesófilos aeróbios, que estabeleceram classificações para os seguintes intervalos: até 100 UFC/cm² (bom); entre 101 e 1.000 UFC/ cm² (regular); entre 1.001 e 10.000 UFC/ cm² (ruim). Considerando os valores apresentados na figura 21 verifica-se que todas

as lanchonetes estão fora do padrão estabelecido pelo autor, sendo classificadas como ruim o que demonstra incorreta higienização das mãos.

A presença de bolores e leveduras em mãos de manipuladores de alimentos representa hábitos higiênico-sanitários precários. A contaminação pode ocorrer pelo contato com a matéria-prima que já se apresentava com esses microrganismos em números elevados, pelo ambiente, à má higienização de equipamentos e utensílios e as superfícies que entram em contato direto com a amostra.

4.2.5 Água de Lavagem (AGL)

A Tabela 28 apresenta os resultados das análises microbiológicas da água de lavagem de alface em L1 a L11.

TABELA 28 – ANÁLISE DE COLIFORMES A 35° C E 45°c EM AMOSTRAS DA ÁGUA USADA NA LAVAGEM DA ALFACE (AGL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS

	Coliformes a 35°C (NMP/100mL)	Coliformes a 45°C (NMP/100mL)	$\alpha = 0,05$	
			mínimo	máximo
AGL1	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL2	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL3	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL4	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL5	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL6	3,60	< 1,10	0,69	10,60
AGL7	2,20	< 1,10	0,26	8,10
AGL8	< 1,10	< 1,10	0,00	3,00
AGL9	3,60	< 1,10	0,69	10,60
AGL10	9,20	< 1,10	3,10	21,10
AGL11	3,60	< 1,10	0,69	10,60

NOTA: NMP= número mais provável; mL= mililitro; α = intervalo de confiança.

As amostras de água foram coletadas das torneiras de lavagem de alface das lanchonetes, oriunda da rede pública de tratamento e abastecimento. Na Tabela 28, 45,5% apresentaram coliformes a 35°C, as lanchonetes L6, L7, L9, L10 e L11 estavam inadequadas para consumo, apresentavam desacordo com a legislação vigente, as quais os níveis de qualidade proíbem a presença de coliformes a 35° C em amostras de 100ml de água (BRASIL, 2004b).

Nenhuma das amostras AGL apresentou presença de coliformes a 45 °C (*E. coli*). Apesar dos coliformes fecais fazerem parte do grupo dos coliformes totais, sendo bactérias unicamente de origem fecal e possuindo como única particularidade para a sua determinação a fermentação da lactose com produção de gás na temperatura de 44,5° C, o que demonstra uma boa sanitização da água com o resultado apresentado (SILVA *et al.*, 2005).

Segundo Kottwitz e Guimarães (2003), a contaminação da água pode ocorrer na fonte, durante a distribuição ou nos reservatórios das cidades. A causa mais freqüente de contaminação da água muitas vezes vem das caixas de água abertas ou mal fechadas e, sobretudo, da carência de hábitos de higiene pessoal e ambiental.

4.3 Avaliação Parasitária

O diagnóstico laboratorial de parasitas presentes em hortaliças é de grande importância para a saúde pública, uma vez que fornecem dados sobre as condições envolvidas desde o cultivo do vegetal, condições de armazenamento, transporte e manuseio que antecede o consumo. A Figura 19 apresenta os resultados da pesquisa parasitológica em amostras de folhas de alface não lavadas nas onze lanchonetes estudadas.

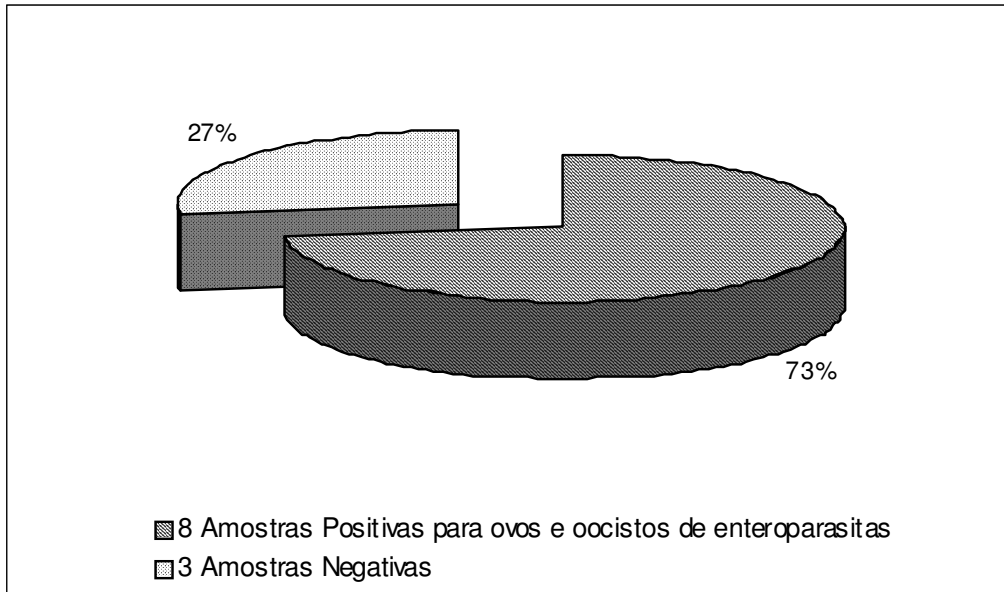


FIGURA 19 – CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANALISADAS ANTES DA LAVAGEM (AL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS

A pesquisa parasitológica nas folhas de alface antes de lavar (Figura 19) apresentou maior porcentagem para amostras contaminadas em 73% das amostras por ovos e larvas de parasitas em relação às amostras não contaminadas que foi de 27%. As lanchonetes cujas amostras acusaram presença de parasitas foram as de L1, L2, L3, L4, L6, L7, L9 e L10. As amostras não contaminadas foram das lanchonetes n° L5, L8 e L11.

As alfaces estudadas eram caracterizadas como do tipo “crespa”, as folhas dessa espécie tem aspecto rugosa e sua lavagem exige uma maior habilidade por parte do manipulador para garantir que ocorra contato completo pela fricção manual e pressão mecânica da água corrente em todas as nervuras das folhas.

A Figura 20 apresenta os resultados das análises parasitológicas das folhas de alface depois de lavadas.

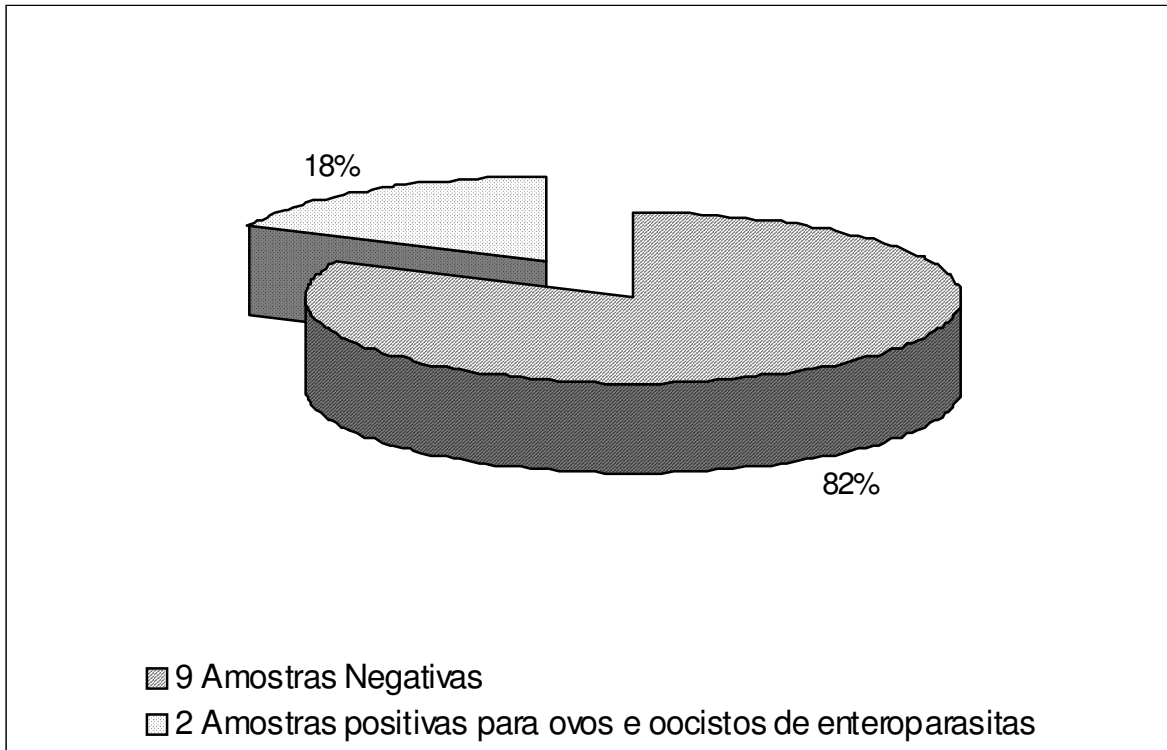


FIGURA 20 – CONTAMINAÇÃO PARASITÁRIA NAS AMOSTRAS DE ALFACE ANALISADAS DEPOIS DA LAVAGEM (DL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS

A pesquisa parasitológica nas folhas de alface depois de lavar (Figura 20) apresentou maior percentagem para amostras não contaminadas em 82% das amostras por ovos e larvas de parasitas em relação às amostras contaminadas que foi de 18%. As lanchonetes cujas amostras acusaram presença de parasitas foram as de L7 e L10. As amostras não contaminadas foram das lanchonetes L1, L2, L3, L4, L5, L6, L8, L9 e L11.

A indicação da contaminação parasitológica nas amostras de folhas de alface depois de lavadas na Figura 23 apresentou redução do percentual inicial das amostras contaminadas de 73% para 18%; ou seja, de oito amostras que estavam contaminadas, passaram depois da lavagem para duas amostras.

Três amostras que não acusaram contaminação na primeira pesquisa mantiveram-se inalteradas após o processo de lavagem das folhas.

A análise parasitária (Figura23) apresentou procedimento eficiente na lavagem nas amostras de alface em 54,5% para as lanchonetes L1, L2, L3, L4, L6 e L9. As lanchonetes que mantiveram a contaminação inicial nas amostras de alface depois da lavagem foram a L7 e L10. As lanchonetes L5, L8 e L11, que não apresentavam contaminação inicial na avaliação parasitária, mantiveram os resultados após o procedimento de lavagem.

As amostras de alface antes da lavagem diferenciaram nos procedimentos de recebimento; porém, no procedimento de lavagem dessas, ocorre o mesmo procedimento de lavagem e tratamento; as folhas eram lavadas em água corrente e não eram mergulhadas em solução de sanitizante.

Como não apresentou o processo de desinfecção nas amostras de alface depois da lavagem, a variável de controle para avaliar a ausência ou permanência dos parasitos foi a condição de manuseio quando da lavagem dessas sob água corrente, que representou o processo de descontaminação parasitológica das folhas.

A maioria dos ovos identificados de parasitas foram de *Ascaris lumbricoides*, agente etiológico da ascaridíase que segundo Rabelo *et al.* (2002) representa uma parasitose de distribuição cosmopolita e uma das mais freqüentes helmintíases humanas, amplamente distribuída na região tropical e temperada do mundo, incidindo mais intensamente nos lugares com clima quente e úmido e onde as condições higiênicas são precárias. Esta contaminação geralmente ocorre via material fecal humano.

Segundo Adams; Moss (1995), a eficácia na correta lavagem de hortaliças folhosas deve ser do centro da folha para fora, em água corrente e friccionando

cada folha nos dois lados, seguida de imersão em solução clorada, utilizando a concentração entre 100 e 200 ppm (mL/L) por 15 minutos. A cuidadosa lavagem de vegetais *in natura* elimina a maioria dos patógenos que contaminam acidentalmente suas superfícies. É importante que a água utilizada para a lavagem seja de boa qualidade bacteriológica, pois durante a lavagem podem-se acrescentar microrganismos contaminantes.

Segundo Baruffaldi et al. (1984), também recomendaram como tratamento químico em folhas de alface o uso de solução de hipoclorito de sódio, por um período de exposição nunca menor de 15 minutos para o procedimento, mostra-se eficaz na eliminação de parasitas aderido às folhas.

Segundo Oliveira et al. (1997), a desinfecção de hortaliças, previamente ao consumo, pode apresentar relevância considerável no sentido de minimizar os riscos de transmissão de enteroparasitas através desses alimentos, uma vez que a lavagem simples não reduz a contaminação por cistos. Sugerem ainda a imersão das folhas em água levemente aquecida por dez minutos. Este método é eficaz tanto para os cistos de protozoários, quanto para ovos de helmintos.

As alterações nas formas qualitativas e quantitativas nas prestadoras de serviços alimentícios, com as exigências da população e dos órgãos governamentais, com os avanços tecnológicos e científicos, vêm contribuindo para uma alimentação mais saudável para os seres vivos. As transformações produtivas em busca da qualidade e da redução dos custos fizeram com que as empresas adotassem novas formas de organização de trabalho, polivalente, integrado, em equipe, com mais flexibilidade e autonomia de funcionários para garantir o alimento seguro; principalmente, alimentos *in natura*, como as hortaliças, em especial às alfaces.

4.4 Comparação entre resultados obtidos nas lanchonetes avaliadas

A Tabela 29 apresenta as classificações pelos ICDs, pesquisa parasitária e análises microbiológicas na água de lavagem nas onze lanchonetes estudadas.

TABELA 29 – COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DE CLASSIFICAÇÃO, ANÁLISE PARASITÁRIA E ÁGUA DE LAVAGEM DAS ALFACES (AGL) NAS ONZE LANCHONETES PESQUISADAS.

L	Classific.	Parasit. (AL)	Parasit.(DL)	\bar{x} colif. 45°C (DL) log10 ²	AGL Colif. 45°C	AGL Colif. 45°C
L1	Regular	+	-	0,783	< 1,1	< 1,1
L2	Deficiente	+	-	0,907	< 1,1	< 1,1
L3	Deficiente	+	-	0,917	< 1,1	< 1,1
L4	Regular	+	-	0,853	< 1,1	< 1,1
L5	Boa	-	-	0,700	< 1,1	< 1,1
L6	Deficiente	+	-	1,567	3,6	< 1,1
L7	Deficiente	+	+	0,967	2,2	< 1,1
L8	Regular	-	-	0,987	< 1,1	< 1,1
L9	Deficiente	+	-	0,913	3,6	< 1,1
L10	Deficiente	+	+	1,567	9,2	< 1,1
L11	Deficiente	-	-	1,200	3,6	< 1,1

NOTA: * amostras contaminadas, ** amostras não contaminadas

Como nenhuma das lanchonetes utiliza sanitizante, verifica-se uma preocupação com os resultados obtidos nos aspectos referentes aos procedimentos de classificação que ocorrem nas vistorias feitas pela Vigilância Sanitária local. As Lanchonetes 6, 7 e 10 fornecem várias informações importantes do ponto de vista em saúde pública. O que fica evidente é que as informações colhidas apenas na aplicação de questionários e avaliação pelo sistema visual não detectam situações de real necessidade de atuações informativas e preventivas

nesses estabelecimentos comerciais. A lanchonete 6 obteve classificação “deficiente” onde existia contaminação parasitária antes da lavagem e na análise depois de lavada os resultados foram negativos, aliado a este fator, observa-se nos padrões oficiais para coliformes a 45 °C ($< 10^2$ NM/g), que o valor não reduziu para um nível aceitável preconizado pela legislação.

A lanchonete 10 que também foi classificada como deficiente permaneceu com os resultados parasitários positivos antes e depois da lavagem das folhas e também apresentando valores acima do padrão oficial para coliformes a 45 °C.

Lanchonete 11 não foi constatado contaminação parasitária antes e nem após o procedimento de lavagem, porém o procedimento da lavagem não foi eficiente para adequar valores de coliformes a 45 °C dentro do aceitável pelas normas oficiais.

Condições precárias ou satisfatórias atribuídas às instalações que processam alimentos não fornecem, entre outras, informações onde somente com análises microbiológicas e parasitárias essas contaminações poderiam ser detectadas. Na Tabela 29 observa-se a necessidade da utilização do uso de sanitizante, mesmo a água corrente vinda da rede pública de abastecimento, com um pH alcalino, não obteve uma redução desejável, continuou desfavorável para um alimento saudável.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões para as análises realizadas pelos Instrumentos de Coleta de Dados (ICDs), lanchonetes (L), amostras de alface antes da lavagem (AL), depois da lavagem (DL), manipuladores específicos (ME) e água de lavagem das alfaces (AGL):

Em relação aos ICDs elaborados e validados nesta pesquisa apresentaram-se eficientes para a avaliação do conhecimento dos fatores de risco na manipulação e preparo dos sanduíches que levaram alface no seu preparo.

Para as lanchonetes que se encontram abaixo da pontuação mínima de classificação, L2, L3, L6, L7, L9, L10 e L11, isto é, fora dos padrões estabelecidos, deverão promover melhorias para adaptarem-se às boas práticas higiênico-sanitárias exigidas pela legislação oficial.

As lanchonetes L1, L4, L5 e L8 encontraram-se dentro da faixa de pontuação exigida, sendo que a L5 obteve a melhor pontuação.

As amostras de alface antes da lavagem (AL) para as análises microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes a 35°C e 45° C (*E. coli*), não apresentaram diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$).

Nas amostras AL não foram detectadas as presenças de *S. aureus* e *Salmonella* sp.

As amostras de alface depois da lavagem (DL) para as análises microbiológicas de bactérias aeróbias mesófilas; de bolores e leveduras e de coliformes a 35° C (coliformes totais), não apresentaram diferença estatisticamente significativa no nível de 5% ($P > 0,05$).

Em relação aos manipuladores específicos (ME) apresentaram contagens significativas para os microrganismos de bactérias aeróbias mesófilas e de bolores e leveduras, coliformes a 45° C, coliformes a 35° C e *S. aureus*, podendo ser considerado um vetor de contaminação no processo de higienização das alfaces.

Apesar das amostras de alface depois de lavadas estarem em conformidade aos padrões microbiológicos da RDC n° 12/01, há o perigo de contaminação por parasitas pelos dados que confirmaram a presença destes nas folhas de alface para consumo como alimento pronto.

As lanchonetes avaliadas apresentaram uma relação *sine qua non* de proporcionalidade sem garantia de boa prática de fabricação em seus sanduíches.

Como conclusão geral do trabalho desenvolvido, verifica-se que deve haver uma junção das formas de avaliação de um estabelecimento alimentício. Não tendo como avaliar um referido estabelecimento apenas por ICDs específicos, sendo necessário aliar avaliações microbiológicas das alfaces, dos manipuladores das mesmas e da água de lavagem, para considerar um estabelecimento em condições higiênico sanitárias satisfatórias.

REFERÊNCIAS DE TRABALHOS PUBLICADOS DA TESE

MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Avaliação de risco microbiológico e parasitário associado ao consumo de alface (*lactuca sativa* L.) *in natura*, em sanduíches. IX ERSCTA – IX Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Anais....** Curitiba: SBCTA, 2007.

MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Perigos associados ao consumo da alface (*Lactuca sativa* L.) *in natura*. **Revista de Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 16, n. 1, jan/mar, p. 83-88, 2005.

MOGHARBEL, A. D. I.; MASSON, M. L. Hazard associates to the consumption of the lettuce, *Lactuca sativa*, *in natura*. In: INTRADFOOD 2005: INNOVATIONS IN TRADITIONAL FOODS, 2005. Valencia, Spain. **Delegate Manual**. Valencia:ELSEVIER, EFFOST, CSIC, IIAD, UPV., 2005. v. único. p. 239.

MOURA, CAROLINA PRANDINE ; WILLE, GRACE M. FERREIRA ; MACEDO, RENATA E. FREITAS; BEUX, MÁRCIA REGINA; MOGHARBEL, ASSUAN; LIMA, JUCINEIDE MATOS; MASSON, MARIA LÚCIA. Estudo das características do extrato sólido de camomila (*Matricaria recutita*) obtido pelos processos de concentração por evaporação a vácuo e crioconcentração. In: 5º SLACA, 2003, Campinas. **Resumos**. 5º SLACA. Campinas: Editora UNICAMP, 2003.

MOURA, CAROLINA PRANDINE ; WILLE, GRACE M. FERREIRA ; MACEDO, RENATA E. FREITAS; MASSON, MARIA LÚCIA; BEUX, MÁRCIA REGINA; MOGHARBEL, ASSUAN; LIMA, JUCINEIDE. Características sensoriais de extrato de camomila (*Matricaria recutita*) em pó concentrado por evaporação a vácuo e crioconcentração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 15., 2004, Curitiba. **Anais...** Curitiba: COBEQ, 2004, n. 2021.

MOGHARBEL, A. D. I. Perigos associados ao consumo da alface, *Lactuca sativa*, *in natura*. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2., 2005, Búzios. **Anais...** Búzios, RJ: II Congresso Latino-americano de Higienistas de Alimentos, 2005.

REFERÊNCIAS

3M – 3M MICROBIOLOGY US. **Microbiology**: interpretation guide of plate. St. Paul, MN, USA: 2005. (Catalogue).

3M – 3M MICROBIOLOGY US. **Microbiology**: a true leader in food safety. Disponível em: < [http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/Food Safety/](http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Microbiology/Food%20Safety/)> Acesso em: 23 mar.2007.

ABDUL-RAOUF, UM M.; BEUCHAT, L. R. AMMAR, M. S. Survival and growth of Escherichia coli O157: H7 on salad vegetables. **Appl Environm. Microbial**, v. 59, 2005.

ABRASEL – Associação Brasileira de Bares e Restaurantes. Programa Qualidade na Mesa. Disponível em: http://abrasel.com.br/index.php/servicos/programa_qualidade_na_mesa> Acesso em: 14 abr. 2006.

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiologia de los alimentos**. Editora Acribia, Zaragoza, p. 259-264, 1995.

ADAMS, M.; MOTAJERMI, Y. **Segurança básica dos alimentos para profissionais de saúde**. São Paulo: Roca, 2002. p. 32-45.

ALCARÁZ. L. E.; SATORÉS, S. E.; SEPÚLVERA, L.; CENTORBI, O. N. P. Detección de Staphylococcus aureus spp. em manipuladores de alimentos. **La Alimentación Latinamericana**, v. 219, p. 44-47, 1997.

ALTEKRUSE, S. F.; STREET, D. A.; FEIN, S. B.; LEVY, A. S. Consumer knowledge of food-borne microbial hazards and food-handling practices. **J. Food Prot.**, v. 62, n. 8, p. 1132-1135, 1999.

ANDRADE, E. C. B. **Análise de alimentos**: uma visão química da nutrição. São Paulo: Livraria Varela, 2006. 238p.

ANDRADE, J. N.; MENDONÇA, R. C. S.; CARELI, R. T.; SIQUEIRA, W. M. Qualidade microbiológica de equipamentos utensílios e manipuladores de uma indústria de processamento de carnes. **Revista Nacional de Carne**, 326 p. 2004.

AOAC – AOAC INTERNATIONAL. **Official Method of Analysis**: validation. Disponível em: <<http://www.aoac.org>> Acesso em: 20 mar. 2007.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. American Public Health Association. 3 ed. 2001.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. American Public Health Association. 19 ed. 1995.

ARBUTHNOTT, J. P.; COLEMAN, D. C.; AZEVEDO, J. S. Staphylococcal toxins in human disease. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 19, p. 101-107, 1997.

ARRUDA, G. A. **Análise de perigos em pontos críticos de controle no SND. 2003.** Disponível em: <<http://www.ccih.med.br/novocapitulo66.html>>. Acesso em: 24 jun. 2004.

AYÇIÇEK, H.; AYDOGAN, H.; KÜÇÜKKARAASLAN, A.; BAYSALLAR, M.; BASUSTA OGLU, A. C. Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. **Food Control**, Turkey, v. 15, n. 4, p. 253-259, jun. 2004.

BALIONE, G. A.; FERNANDES, F. V.; SOARES, M. M. S. R.; RIBEIRO, M. C. Avaliação higiênico-sanitária de alfaces agro-ecológicas e cultivadas com agrotóxico, comercializadas na região de Campinas. **Rev. Hig. Alimentar**, v. 17, n. 112, p. 73-79, 2003.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **J. Food Microbiol.**, v. 61, p. 1-10, 2000.

BANWART, G. L. **Basic food microbiology.** Westport: AVI Publ. Company, USA, 1989.

BAQUI, A. H.; SACK, R. B.; BLACK, R. E. Malnutrition, cell-mediated immune deficiency and diarrhea: a community-based longitudinal study Bangladeshi children. **Am. J. Epidemiol.**, n. 137, p. 355-365, 1993.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria.** Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2001. 401p.

BARUFFALDI, R.; PENNA, T. C. V.; MACHOSHVILLI, I. A. Tratamento químico de hortaliças poluídas. **Revista Saúde Pública**, v. 18, n. 3, p. 225-234, jun. 1984.

BEERS, M. H. **The Merck manual of medical information.** 2nd. ed. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 2003. 1907p.

BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística.** Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002. 272p.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINO, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 197-201, mai/ago. 2001.

BEUCHAT, L. R. Pathogenic microorganisms associated with fresh produce. **J. Food Prot.** v. 59, p. 204-216, 1996.

BEUCHAT, L. R. Standardization of methods to determine the efficacy of disinfectants for raw fruits and vegetables. In: TUIJTELAARS, et al, (eds) **food microbiology and food safety into the next millenium.** Proceedings of 17th

International Conference of International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH), Veldhoven, The Netherlands, 13-17, September, 1999, p. 785-786, 2001.

BITZAN, M.; LIDWIG, K.; KLEMT, M.; KONIG, H.; BUREN, J.; MULLER-WIELF, D. E. The role of *Escherichia coli* infections in the classical (enteropathogenic) hemolytic uraemic syndrome: results of a central European multi-center study. **Epidemiology Infective**, v. 110, p. 183-196, 2003.

BRACKETT, R. E.; SPLITTSTOESSER, D. F. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. **J. Food Prot.** v. 55, n. 10, p. 804-814, 1992.

BRABES, K. C. S.; ANDRADE, N. J.; MENDONÇA, R. C. S.; LIMA, J. C.; LOPES, F.A. Identificação e Classificação de Enterotoxinas Produzidas por *Staphylococcus* spp. Isolados de Ar de Ambiente, Manipuladores e de Superfícies em uma Indústria de Laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, n. 333, p. 33-38, jul./ago. 2003.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. **Dispõe sobre infrações à legislação sanitária federal**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, seção 5, p. 4. Brasília, 21 ago. 1977.

BRASIL. Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, Seção I, v.182, n. 7, p. 21005-21012, 1997.

BRASIL. Resolução nº 275, de 21 de outubro de 2002. **Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 06 nov. 2002.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. **Dispõe sobre termos credenciamento, inspeção e certificação de produção orgânica**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, seção 1, p. 8. Brasília, 24 dez. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução - RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.html>. Acesso em: 24 jun. 2004a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004**. Disponível em: <http://www.e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=8134>>. Acesso em 12 nov. 2004b.

BRASIL. Portaria n° 518, de 24 de março de 2004. **Dispõe sobre normas e padrões de potabilidade de água destinada ao consumo humano.** Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 mar. 2004c.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Legislação.** Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 20 mar. 2007.

BRYAN, F. L. Street vending in developing countries. **Food Australia**, v. 45, n. 2, p. 80-84, 1993.

BRYAN, F.L. Epidemiology of food-borne diseases, in: **Food-Borne Infections and Intoxications**, 2 ed. New York: Academic Press, USA, p.4-69, 1979.

BUCHANAN, R. L. **Principles of risk analysis as applied to microbial food safety concerns.** Symposium of the Swiss Society of Food Hygiene, Zurich, Mitt. Lebensm. Hyg. 95, 2004.

BUDAVARI, S. **The merck index:** an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13.ed. Whitehouse Station, NJ: Merck Research Laboratories, 2001. 1818p.

CABRINI, K. T. **Pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* em alface (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Limeira.** São Paulo, Brasil. Rev. Hig. Alimentar, v. 16, n.95, abr. 2002.

CAETANO, L. C. S.; FERREIRA, J. M.; ARAÚJO, M. L.; SILVA, V.V.; LEAL, M. A. A.; ANDRADE, W. E. B.; COELHO, R. G.; CUNHA, H. C.; SARMENTO, W. R. M.; CUNHA, H.; STORCH, M.; COSTA, R. A. e SILVA, J. A. C. **A cultura da alface: perspectivas, tecnologias e viabilidade.** Niterói: Rio de Janeiro, p. 23, ago. 2001.

CAMARGO, N. J.; SOUZA, I. L.; PUZYNA, I. P. e PESTANA, A. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos em 1998.** Curitiba: Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Centro de Saneamento e Vigilância Sanitária, Mimeo. 1998.

CARELI, R.T.; DIAS, A.S.; ANDRADE, N.J. e ANTUNES, M.A.; Qualidade de água e condições higiênicas de manipuladores, equipamentos e utensílios em micro-indústrias de laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, n. 333, p. 85-88, jul./ago. 2003.

CASTRO, A. G.; POUZADA, A. S. **Embalagens para a indústria alimentar:** Lisboa, Portugal: Instituto Piaget, 2003. p. 203-289.

CATANOZI, M. P. M.; MORELHÃO, G.G. e UIRCIC, K. M. Avaliação microbiológica de lanches vendidos em carrinhos de ambulantes na cidade de Araraquara, SP. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 66/67, p. 116-121, 1999.

CEASA – CENTRAL DE ABASTECIMENTO DO PARANÁ S.A. **Volumes comercializados nas unidades atacadistas.** Disponível em: <<http://www.ceasa.pr.gov.br/modules/conteúdo.php?conteudo=24>> Acesso em: 20 mar. 2007.

CELEPAR. **Ficha técnica de produtos hortifrutigranjeiros**. Disponível em: <www.CELEPAR.br/seab/CEASA> Acesso em: 24 jan. 2005.

CFSAN: **Initiation and conduct of major risk assessments within a risk analysis framework**. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, College Park, MD, USA, 2004.

CHEN, Y.H.; JACKSON, K.M.; CHEA, F.P. e SCHSFFNER, D.W. Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food service tasks. **Journal Food Protection**, n.64, p. 72– 80. 2004.

CHESCA, A. C. MOREIRA, P. A. e ANDRADE, S. C. B. J. de: MARTINELLI, T. M. Equipamentos e utensílios de unidades de alimentação e nutrição: im risco constante de contaminação das refeições. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo: GT, 2003. v. 17, n. 114/115, p. 20-23, 2003.

CODEX ALIMENTARIUS - **Committee of general principles**: Draft working principles for risk analysis for application within the framework of Codex Alimentarius. ftp://ftp.fao.org/codex/alinorm03/AI03_33.pdf, pp. 40-46, 2004.

CRUESS, W. V. **Produtos industrializados de frutas e hortaliças**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 1973.

CURTIS, M. L.; FRANCESCHI, O. e CASTRO, N. Determinación de la calidad em comedores de empresas privadas. **Archivos Latamericanos de Nutrición**. Caracas, Venezuela, v. 50, n. 2, p. 177-182, 2000.

DEN, A.E.D. **Recontamination in food processing**: quantitative modelling for risk assessment. PhD Thesis, Wageningen, University, 128 pp. 2002.

DEWAAL, C. S. Safe food from a consumer perspective. Noroordwijk , Food Safety HACCP forum, USA. **Food Control**, v. 14, p. 75 – 79. 2003.

DOYLE, M. P. Fruit and vegetable safety - microbiological considerations. **Hort. Science**., v. 25, p. 1478-1482, 1990.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed. rev. amp. Curitiba: Champagnat, 2007. p.203.

EMATER - EMPRESA PARANAENSE DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL. **Relatório técnico**: processo de agricultura hidropônica. 17 p., 2004.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PRODUTOS AGRÍCOLAS. **Projetos** Disponível em: <[http:// www.embrapa.br/CNPH_proj/03096280.htm](http://www.embrapa.br/CNPH_proj/03096280.htm)>. Acesso em: 23 mar. 2005.

EMBRAPA/SEBRAE. **Alface**: produção em cultivo protegido. Eng. Agr. M.Sc Nozomo Makishima e Eng. Agr. João Antônio Fagundes Salomão. Brasília: DF, 2003.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 2001.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The special programme for food security**. Disponível em: <<http://www.fao.org/spfs/>>. Acesso em: 23 dez. 2006.

FAUST, E. C.; D'ANTONI, J. S. D.; ODOM, V.; MILLER, M. F.; PERES, C.; SARVITZ, W.; THOMEN, L. F.; TOBIC, J. e WALKER, J. H. A critical study of clinical laboratory techniques for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in faeces. **Am. J. Trop. Med.**, n. 18, p. 169-183, 1938.

FDA/CFSAN - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, CENTER FOR FOOD SAFETY AND APPLIED NUTRITION. **The bad bug book**:: foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. 2001. Disponível em : <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>>. Acesso em: 26 fev. 2005.

FERREIRA, A. B. H. **Miniaurélio**: o minidicionário da língua portuguesa. 6.ed. rev. amp. Curitiba: Posigraf, 2004. 896p.

FERREIRA, M. G. A. B.; BAYMA, A. B.; MARTINS, A. G. L. A.; JÚNIOR, A. V. G. e MARINHO, S. C. Aspectos higiênico-sanitários de legumes e verduras minimamente processados e congelados. **Rev. Hig. Alimentar**, v. 17, n. 106, p. 49-55, mar/2003.

FILGUEIRA, F. A. R. Manual de olericultura. São Paulo: Ed. Agrômica Séries, 2ª. Ed. 336p. 1982.

FISBERG, R. M.; SLATER, B.; MARCHIONI, D. M. L.; MARTINI, L. A. **Inquéritos alimentares**: métodos e bases científicas. Barueri-SP : Manole, 2005. 334p.

FISHBEIN, M.; MEHLMAN, I. J.; CHUNG, L. e OLSON Jr, J. C. Coliforms, fecal coliforms, E. coli and enteropathogenic E. coli, in: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: American Public Health Association, USA, p. 277-300, 1976.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de: Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. Original inglês.

FORTUNA, J. L. Aspectos higiênico-sanitários no preparo de carne bovina servida em refeições escolares de instituições municipais e estaduais, no estado do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v.16, n. 95, p. 23-32, 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 182p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 307p.

FRAZIER, W. C. e WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 1993.

FRAZIER, W. C. e WESTHOFF, D. C. **Food Microbiology**. 3.ed. New York: McGraw Hill Book Company, USA, 1978.

FURLANETTO, S. M. P.; LACERDA, A. A. e CERQUEIRA-CAMPOS, M. L. Pesquisa de microorganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e rotisseries. **Revista Saúde Pública**, v. 16, p. 307-316, 1982.

GAGLIARDI, J. V. e KARNS, J. S. Leaching of Escherichia coli O157:H7 in diverse soils under various agricultural management practices. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 877-883, mar. 2000.

GARCIA-VILLANOVA R. B e GALVEZ V. R. Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing. **Journal Food Microbiol**, v. 4, p. 285-291, 2000.

GERMANO, M. I. S. **Treinamento de manipuladores de alimentos**: fator de segurança alimentar e promoção da saúde. São Paulo: Livraria Varela, 2003 / Higiene Alimentar, 2003. 165p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A F. **Vigilância sanitária de alimentos**. Apostilas do curso de pós-graduação em vigilância sanitária de alimentos. Faculdade de Saúde Pública de Alimentos, 1998.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; KAMEI, C. A. K.; ABREU, E. S. RIBEIRO, E. R. SILVA, K. C.; LAMARDO, L. C. A.; ROCHA, M. F. G.; VIEIRA, V. K. I. e KAWASAKI, V. M. Manipuladores de alimentos: capacitar? É preciso? Regular?...Será preciso??? **Revista Higiene Alimentar**, v.14, n. 78/79, p. 18-22, 2000.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (USP), 1990.

GÓMEZ-LUCIA, E.; GOYACHE, J. e BLANCO, J. L. Growth of Staphylococcus aureus and Enterotoxin Production in Homemade Mayonnaise prepared with different pH values. **Journal Food Protection**, v. 50, n. 10, p. 872-875, out. 1987.

GOPAL, A.; S. AJLONNI; H. ROGINSKIF; J. COVENTRY and J. WAN. Application of non-conventional disinfection techniques to extend the shelf-life of minimally processed foods. 10th, World Congress of Food Science and Technology. **Abstract Book**, Sydney, Australia, 1999.

GRUPO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DO IST - Universidade Técnica de Lisboa, 2003. **Canal 5**: hortaliças. Disponível em: <<http://www.e-escola.pt/site/topico.asp?Tópico=230&canal5>> Acesso em: mar. 2005.

HAAS, C. N.; ROSE, J. B. e GERBA, C. P. **Quantitative microbial risk assessment**, New York: Wiley. 1999.

HAAS, C. N. Effect of effluent disinfection on risk of viral disease transmission via recreational exposure. **Journal of the Pollution Control Federation**, n. 55, p. 1111–1116, 1983.

HAIR JR., J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. Tradução: Adonai Schlup Sant'ana, Anselmo Chaves Neto. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006. 593p. Original inglês.

HOOPS, B. C e GILBERT, R. J. **Higiene e toxicologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, p. 235, 1986. HOOPS, B. C.; ROBERTS, D. Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos. São Paulo: livraria Varela, 376p, 1999.

HOOPS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Ed. Varela, 376p, 1999.

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A. e JANER, J. L. The sedimentation-concentration method. **Rico. Journal Public Health.**, n.9, p. 281-298, 1934.

IHA, M. H.; FÁVARO, R. M. D.; OKADA, M.M.; PRADO, S. P. T. e OLIVEIRA, M. A. Avaliação físico-química e higiênico-sanitária de suco de laranja não pasteurizado, engarrafado e comercializado nas cidades de Ribeirão Preto e Araraquara-SP. **Anais...** Rio de Janeiro, XVI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos – SBCTA, 1998.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Ecologia microbiana de los alimentos**: produtos alimentícios. Zaragoza: Acribia, v.2, 1985.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods**: their significance and Methods of Enumeration, 2. ed. Toronto: University of Toronto Press, USA, 1978.

INTERNATIOANAL ASSOCIATION OF MILK FOODS AND ENVIRONMENTAL SANITARIANS INC.(IAMFES). **Procedures to implement the hazard analysis critical point system**. Ames, 1991.

JANEWAY, JR, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M.J. **Imunologia**: o sistema imune na saúde e na doença. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 848p.

JAY, J. M. Gastroenterites estafilocócicas. In: **Microbiologia moderna de los alimentos**. 4.ed. Zaragoza: Acribia S. A., cap. 19, p. 537-563, 2002.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. ed. 6, Porto Alegre: Artmed, 2005.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold Company, USA, 1970.

JEMRA – THE JOINT FAO/WHO MEETINGS ON MICROBIOLOGICAL RISK ASSESSMENT. **Nutrition and consumer protection**. Disponível em: <www.fao.org

KHAN, M. R; SAHA, M. L. e KIBRIA, A. H. M. G. Bacteriological profile of salad vegetables in Bangladesh with special referente to coliforms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 14, p. 88-90, 1992.

KOEHLER, H. S. **Estatística experimental**. Curitiba: UFPR, 1999. 124p. (Apostila).

KOEHLER, H. S. **Manual de uso do programa mstatc**. Curitiba: UFPR, 1996. 38p. (Apostila).

KOTTWITZ, L. B. M. e GUIMARÃES, I. M. Avaliação da qualidade microbiológica da água consumida pela população de Cascavel, PR. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 113, p. 54-59, out. 2003.

LAGAGGIO, V. R. A.; FLORES, M. L. e SEGABINAZI, S. D. Avaliação parasitológica da alface (*Lactuca sativa*) consumida in natura no Restaurante da Universidade Federal de Santa Maria, RS. **Revista Higiene Alimentar**, v. 97, n. 16, p. 62-65, out. 2002.

LEPSCH, I. F. **Formação e conservação dos solos**. São Paulo: Oficina de textos, 2002. p. 19-66.

LIMA, C. R. **Quem está na minha cozinha?** Aprenda como se prevenir das doenças transmitidas por alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 2006. 238p.

LIMA, L. C. B. **Hortifrutigranjeiros**: guia completo. Porto Alegre: Editora Sagra Luzzatto, 2000. p.153-160.

LIN, C.; FERNANDO, S. Y. e WEI, C. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in vegetable salads. **Food Control**, v. 7, p. 135-140, 1996.

MADEIRA, M.; FERRÃO, M. E. M. **Alimentos**: conforme a lei. São Paulo: Editora Manole, 2002. 443p.

MAGALHÃES, M. N. & LIMA, A. C. P. **Noções de probabilidade e estatística**. 6ª ed., São Paulo: EDUSP, 2004.

MAGNÉE, H. **Administração simplificada para pequenos e médios restaurantes**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 129p.

MAISTRO, L. C. **Alface minimamente processada**: uma revisão. Revista de Nutrição, v. 3, n. 14, p. 219-224, 2001.

MASSAGUER, P. R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 258p.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L. F.; BRESEE, S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M. e TAUXE, R. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 5, p. 607-625, set/out. 1999.

MELO FRANCO, B. D. G. **Frequência de isolamento e propriedades de Escherichia coli enteropatogênica em alimentos**. 1983. Tese para obtenção do título de doutor, Faculdades de Ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 82 p.

MESQUITA, V. C. L.; SERRA, C. M. B. e BASTOS, O. M. P Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n.4, p. 363-366, jul.-ago., 1999.

MONGE, R. e ARIAS, M. L. Presencia de microorganismos patógenos en hortalizas de consume crudo en Costa Rica. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Costa Rica, v. 46, n. 4, p. 292-294, 1996.

MORITA, T. N. & WOOD-BURN, M. Enterotoxin C2 production by S. aureus in entrée salads. **Journal Food Science**. v. 48, p. 243-245, 1996.

MOSSEL, D. A. A. e TARR, H. L. A. Significance of microorganisms in foods. J. C. **Chemical and biological hazards in foods**. Iowa, The Iowa State University Press, p. 157-201, 1994.

MOSUPYE, F. M. e HOLY, A. Microbiological hazard identification and exposure assessment of street food vending in Johannesburg, South Africa. **International of Food Microbiology**, v. 61, p. 137-145, 2000.

MOTA, J. H.; SOUZA, R. J.; SILVA, E. C.; CARVALHO, J. G.; YURI, J. E. Efeito do cloreto de potássio via fertirrigação na produção de alface americana em cultivo protegido. **Ciência Agrotécnica**. , Lavras, v. 25, n. 3, p. 542-549, mai/jun, 2001.

MSU - MICHIGAN STATE UNIVERSITY. MSTATC, versão 2.10, East Lansing, MI, 2 disquetes 3½pol., MSDOS, 1989.

NACMCF - NATIONAL COMMITTEE ON THE MICROBIOLOGICAL CRITERIA FOR FOODS . Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. **Food Control**, v. 9, n. 6, p. 321-347, 1998.

NASCIMENTO, A. R. e MARQUES, C. M. P. Avaliação microbiológica de saladas in natura, oferecidas em restaurantes self-service de São Luís, MA. **Revista Higiene Alimentar**, v. 12, n. 57, out. 1998.

NASCIMENTO, M. da S.; CATANOZI, M. P. L. M. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, comercializadas no município de Campinas – SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 114/115, nov/dez. 2003.

NASCIMENTO, M. R. e STAMFORD, T. L. M. Influência de *Escherichia coli* O157:H7 em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, n. 70, março/ 2002.

NASSU, R.T.; BENEVIDES, S.D.; BORGES, M.F.; SILVA, J.B.; LEITE, A.I.N.; Implantação de boas práticas de fabricação em uma Indústria de Laticínios no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p. 12-17, jul./ago. 2002.

NERVINO, C. V.; HIROOKA, E. Y. Fatores contemporâneos que afetam a incidência de patógenos causadores de doenças de origem alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 12, p. 197-206, 1997.

NOGUEIRA, M.; DUARTE, J.; AMARAL, L. A.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P. e NASCIMENTO, A. A. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária das águas utilizadas nas hortas situadas no município de Jaboticabal – SP. In: **Anais... XXI Congresso brasileiro de Microbiologia**, 2001, Foz do Iguaçu, p.379.

NOVAK, F. R. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina em leite humano ordenhado**, 1999. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

NSF - International. **Non-potentially hazardous foods**. Ann Arbor . comprehensive reviews in food science and food safety, nov. 2000.

ODUMERU, J. A.; MITCHELL, S. J.; ALVES, D. M. LYNCH, J. A.; YEE, A . J. Assesment on the microbiological quality of read-to-use vegetables for the health-care food services. **J. Food Prot.**, v. 60, p. 954-960, 1997.

OLIVEIRA, A. M. **Boas práticas de fabricação na agroindústria familiar: propostas para garantia da segurança alimentar estudo de caso em Coronel Vivida**, PR. 2002. 131 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, M. I. S. e GERMANO, P. M. L. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 6, p. 34-36, junho, 1997.

O.M.S - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Segurança básica dos alimentos para profissionais de saúde**. 1. ed. São Paulo: Editora Roca, 2002.

ORNELLAS., L. H. **A alimentação através dos tempos**. 2. ed. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2000. 307p.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e Preparo de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. Tradução: Luiz Sérgio de Castro Paiva. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2004. 506p. Original inglês.

PALU, A. P. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, servidas em restaurantes self-service privados, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 100, set/out . 2002.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. **Surto alimentar**. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/CSA/SURTO_alimentar/index.html>. Acesso em: 24 abr. 2004.

PARDI et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: CEGRAF-UFG/Niterói: EDUFF, v.1, 586p. 1995.

PASSOS, M. H. e KUAYE, A. Y. Relato de surto de intoxicação alimentar provocada por consumo de bolo contaminado por *Staphylococcus aureus*. Importância da higiene dos manipuladores e condições de conservação do alimento na prevenção da doença. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 56, n. 1, p. 71-76, 1996.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia**: conceitos e aplicações. 2.ed. Tradução de: Sueli Fumie Yamada, Tânia Ueda Nakamura, Benedito Prado Dias Filho. São Paulo: Pearson Makron Books, 2005. v. 1. 524p. Original inglês.

PEREIRA, M. L.; GASTELOIS, M. C.; BASTOS, E. M. A. F.; CAIAFFA, W. T. e FALEIROS, E. S. C. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. Em queijo Minas. Arq. Brasil. **Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 51, p. 427-431, 1999.

PESAGRO-RIO. Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro. Documentos: Alface (*Lactuca sativa* L), cultivo, tecnologia, produção, aspecto econômico. Ed. Coordenadoria de Difusão de Tecnologia, 2001.

PINTO, A. F. M. A. **Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos**. Millenium on line, n.4, 1996. p. 91-100. disponível em: <http://www.ipv.pt/millenium/Millenium_4.htm> Acesso em: out. 2004.

POWELL, R. M.; EBEL, E.; SCHLOSSER, W.; WALDERHAUG, M. e KAUSE, J. Biomedical and Life Sciences. **Journal Quantitative Microbiology**, n. 2, v. 2, p. 141-163, jun/2000.

PRZYBYLSKA, A. Foodborne infecciones and food poisoning in 1997. **Journal Epidemioly**, v. 53, n. 1-2, p. 103-104, 1999.

QUEIROZ, A. T. A.; RODRIGUES, C. R.; ALVAREZ, G. G. E KAKISAKA, L. T. Boas Práticas de fabricação em restaurantes “self-service” a quilo. **Higiene Alimentar**, V. 14, n. 78/79, p. 45-48, 2000.

RABELO, R. A.; CAVALCANTE, D. L.; CARVALHO, M. J. M. e ALVIM, A. C. Prevalência de ascaridíase em São Luís–MA. **Anais...** In: XVIII Jornada de Parasitologia e Medicina Tropical do Maranhão. São Luís, p. 59, 2002.

RAPINI, L.S.; FEIJÓ, L.D.; VERAS, J.F.; NASCIMENTO, K.F.; AMADO, J.B.; COUTO, I.P.; CARMO, L.S.; SILVA, M.C.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; Pesquisa de *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, *Listeria* sp., *Staphylococcus* sp. e detecção de Enterotoxinas Estafilocócicas em Queijo Tipo Coalho. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p. 60-65, jul./ago 2002.

REIJ, M. W. e AANTREKKER, E. D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. **Food Microbiology**, v. 91, n. 12, p. 1-11, 2004.

REY, L. **Parasitologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 888 p.

RUIZ, B. G.; VARGAS, R. G. e GARCIA-VILLANOVA, R. Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing. Int. **Journal Food Microbiol**, v. 4, p. 285– 291, 2001.

SAKATA - SAKATA SEED SUDAMERICA. **Tipos de hortaliças**. Bragança Paulista - SP, 2007 (Catálogo).

SANTANA, A. S.; CONCEIÇÃO, C. e AZEVEDO, D. R. P. Comparação entre os métodos Simplate TPC-CI e Petrifilm AC e os métodos convencionais de contagem em placas para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvete. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 60-64, 2002.

SANTOS-RIBEIRO, A.; GUERRA, R.M.S.; ALFELD, V. F.; COSTA, F. N. e ALVES, L. M. C. Determinação de bactérias termotolerantes em alfaces (*Lactuca sativa*) de pontos de revenda da ilha de São Luís, IN: **Anais... XX Jornada de Parasitologia e Medicina Tropical do Maranhão**. São Luís – MA, p. 46, 2003.

SAO PAULO. Secretária de Saúde. **Resolução SS – 196/98**, publicado no Diário Oficial do Estado de São Paulo. 1998. 21 p.

SCUSSEL, V. M. **Contagem de bolores e leveduras**. Santa Catarina (Apostila – Universidade Federal de Santa Catarina). 48 p. 1986.

SENAI. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. 2. ed. Brasília: SENAI/DN. 2000. 361p.

SGARBIERI, V. C. **Alimentação e nutrição**: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: Editora da Unicamp; São Paulo: Almed, 1987. 314 p.

SHIFERAW, B.; YANG, S.; CIESEAK, P.; VUGIA, D.; MARCUS, R.; ÂNGULO, F. J. Prevalence of high-risk food consumption and food-handling practices among adults: a multistate survey, 1996 to 1997. The Foodnet working Group. **Journal Food Protection**, v. 63, n. 11, p. 1538-1543, 2000.

SILVA, W. P. **Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de leite de vacas com mastite sub-clínicas e de outras propriedades produtoras de leite**. 1998, 137f. Tese (Doutorado em

Ciências de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, SP.

SILVA, A. I. M. ; VIEIRA, R. H. S. F.; CARVALHO, F. LIMA, A. S.; VIEIRA, G. H. F. Qualidade da água de poços destinada ao consumo humano, na cidade de Fortaleza, CE. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 134, p. 70-74, ago 2005.

SILVA, C. A.; SERAFINI, A. B. Análise microbiológica das refeições servidas no restaurante da Universidade Federal de Goiás, entre junho e novembro de 1994. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, n. 48, p. 26-29, 1997.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 197 p.

SILVA, M. M. S.; ALBANEZ, A. C. M. P.; SILVA, D. S. Acesso ao alimento. In: SILVA, M. M. S.; CAMPOS, M. T. F. S. (Ed.). **Segurança alimentar e nutricional na atenção básica em saúde: fundamentos práticos para promoção de ações**. Viçosa, UFV, 2003. cap. 7. p. 65 – 77.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. rev. ampl. São Paulo: Livraria Varela Ltda., 2001. 317p.

SILVA, W. P.; GANDRA, E. A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 18, n. 122, p. 32-40, jan. 2001.

SILVA JÚNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6. ed. reimp. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 624 p.

SOARES, J. L. **Dicionário etimológico e circunstanciado de biologia**. São Paulo: Editora Scipione, 2003. 534p.

SOUZA, J. M. **Qualidade microbiológica de massas de pizza semi-prontas: pontos críticos na produção e comercialização**. 1997, 122f. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

SPERS, E.E.; KASSOUF, A. L. A abertura de mercado e a preocupação com a segurança dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 46, p. 16-26, 1996.

STAT SOFT Electronic Statistics Textbook, USA. Disponível em: <<http://statsoft.com/textbook/stathome.html>>. Acesso em: mai. 2006.

SVENSSON, L. Diagnosis of foodborne viral infections in patients. **International Journal of Food Microbiology**. V. 59, p. 117-126, mar. 2000.

TAKAYANAGUI, O. M.; FEBRÔNIO, L. H.; BERGAMINI, A. M.; OKIMO, M. H.; CASTRO, E.; SILVA, A. A. Fiscalização de hortas produtora de verduras no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 33, p. 169-174, 2000.

TAUXE, R. Surveillance and investigation of foodborne diseases; roles for public health in meeting objectives for food safety. **Food Control**. v. 13, n.3/4, p. 363-369, jun./jul. 2002.

TOMMASI, D. **Manual de boas práticas de produção e serviços na área de alimentos**. São Paulo: CIPS, 2002.

TORTORA, G. J. O. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n. 4, p. 535-537, 2003.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 829p.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística**. 7ª ed., Rio de Janeiro: LTC, 1999.

UNGAR, M. L.; GERMANO, I. M. S. e GERMANO, P. M. I. Riscos e consequências da manipulação de alimentos para a saúde pública. **Higiene Alimentar**, v.6, n. 21, p. 14-17, 1992.

UNIFESP – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO. **Tabela de composição química dos alimentos**. Disponível em: < <http://www.unifesp.br/dis/nutri/nutri.php?id=2681> > Acesso em: 20 mar. 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – Sistemas de Bibliotecas. **Normas para apresentação de documentos científicos**. Curitiba: Editora UFPR, 2000. 10 v.

VERGARA, P. V. G.; REVUELTA, C.C. e MAJEM, L. S. Evaluación de la eficacia de los cursos de formación sanitaria dirigidos a los manipuladores de alimentos de area sanitaria de Ganídias Valência. **Revista Española de Salud Pública**, Madrid, v.74, n.3, p.299-307, mai/jun. 2000.

VERLINDER, B.E.; NICOLAI, B.M. Fresh-cut fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, v.5, n. 18, 2000.

WHO/FAO. **Emerging foodborne diseases**. Disponível em: <<http://www.who.fao.int/inf-sf/en/fact124.html>>. Acesso em: 24 abr. 2004.

WHO/FAO. **The interaction between assessors and managers of microbiological hazards in food**. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/march2000l>>. Acesso em: 12 mai. 2004.

YANG, S.; ANGULO, F. J. e ALTEKRUSE, S. F. Evaluation of safe food-handling instructions on raw meat and poultry products. **Journal Food Protection**, v. 63, n. 10, p. 1321-1325, 2004.

ZACCARELLI, E. M.; COELHO, H. D. e SILVA, M. E. P. O. O jogo como prática educative, no treinamento para controle higiênico-sanitário, em unidades de alimentação e nutrição. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 17, p. 23-26, 2000.

ZOTTOLA, E. A. Microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry? **Food Technololy.**, v. 48, n. 7, p.1 07-114, 2004.

ANEXO 1 - EXEMPLO DE RESULTADO NA APLICAÇÃO DOS ICDs NA AVALIAÇÃO DAS LANCHONETES

Resultado das pontuações para cada ICD pela aplicação da Equação de Pontuação das Lanchonetes.

	N° ITENS "SIM" (6)	N° ITENS "SIM" (4)	N° ITENS "SIM" (2)	N° ITENS "NAO"
ICD 1	1	7	9	7
ICD 2	4	13	3	6
ICD 3	7	--	--	4
ICD 4	10	--	--	3

ICD1= 9 pontos

ICD2= 25 pontos

ICD3= 38 pontos

ICD4= 56 pontos

- Exemplo de aplicação da Equação de Cálculo para o ICD 1:

$$PI_n = \frac{TS_n}{K_n - TNA_n} \times P_n \quad \Rightarrow \quad PI_n = \frac{(1 \times 6) + (7 \times 4) + (9 \times 2)}{60 - 0} \times 10 = 8.66$$

SOMATÓRIO DOS 4 ICDS PARA AVALIAÇÃO DA LANCHONETE n° 5 = 128 pontos

ANEXO 2 – LISTAGEM DOS RESULTADOS DE CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AEROBIAS MESÓFILAS EM AL

Data file: Cont_Total_Bamesof
Title: Delineamento Inteiramente Casualizado

Function: PRLIST
Data case no. 1 to 33

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name/ Description
1 NUMERIC    TRATAMENTO
2 TEXT 3     REPETIÇÕES
3 NUMERIC    CTBamesof
```

CASE			
NO.	1	2	3
1	1	I	2.0
2	1	II	8.2
3	1	III	6.4
4	2	I	4.8
5	2	II	5.0
6	2	III	3.6
7	3	I	8.4
8	3	II	4.4
9	3	III	3.2
10	4	I	5.6
11	4	II	8.2
12	4	III	6.6
13	5	I	4.4
14	5	II	6.3
15	5	III	8.0
16	6	I	6.1
17	6	II	4.8
18	6	III	8.2
19	7	I	4.6
20	7	II	5.6
21	7	III	7.0
22	8	I	6.4
23	8	II	8.2
24	8	III	6.8
25	9	I	6.0
26	9	II	4.8
27	9	III	8.8
28	10	I	5.6
29	10	II	4.4
30	10	III	7.2
31	11	I	6.5
32	11	II	5.4
33	11	III	3.8

ANEXO 3 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE CONTAGEM TOTAL DE BACTÉRIAS AERÓBIAS MESÓFILAS EM AL

Data file: Cont_Total_Bamesof
Title: Delineamento Inteiramente Casualizado

Function: ANOVA-1
Data case no. 1 to 33

One way ANOVA grouped over variable 1 (tratamento)
With values from 1 to 11

Variable 3 (CTBamesof)

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	10	18.202	1.820	0.549	0.0000
Within	22	72.887	3.313		
Total	32	91.089			

Coefficient of Variation = 3.40%

V A R I A B L E N o . 3

Var. 1	Number	Sum	Average	SD	SE
1	3.00	16.600	5.533	3.19	0.51
2	3.00	13.400	4.467	0.76	0.51
3	3.00	16.000	5.333	2.72	0.51
4	3.00	20.400	6.800	1.31	0.51
5	3.00	18.700	6.233	1.80	0.51
6	3.00	19.100	6.367	1.72	0.51
7	3.00	17.200	5.733	1.21	0.51
8	3.00	21.400	7.133	0.95	0.51
9	3.00	19.600	6.533	2.05	0.51
10	3.00	17.200	5.733	1.40	0.51
11	3.00	15.700	5.233	1.36	0.51
Total	33.00	195.300	65.100	18.46	5,57
Within		2.21			

Bartlett's test

Chi-square = 6.127
Number of Degrees of Freedom = 10
Approximate significance = 0.000

ANEXO 4 – LISTAGEM DOS RESULTADOS DE CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C EM DL

Data file: Cont_Colif45CEc
 Title: Delineamento Inteiramente Casualizado

Function: PRLIST
 Data case no. 1 to 33

List Of Variables

```
-----
Var Type      Name/ Description
1 NUMERIC     TRATAMENTO
2 TEXT 3      REPETIÇÕES
3 NUMERIC     CC45EC
```

CASE			
NO.	1	2	3
1	1	I	2.0
2	1	II	8.2
3	1	III	6.4
4	2	I	4.8
5	2	II	5.0
6	2	III	3.6
7	3	I	8.4
8	3	II	4.4
9	3	III	3.2
10	4	I	5.6
11	4	II	8.2
12	4	III	6.6
13	5	I	4.4
14	5	II	6.3
15	5	III	8.0
16	6	I	6.1
17	6	II	4.8
18	6	III	8.2
19	7	I	4.6
20	7	II	5.6
21	7	III	7.0
22	8	I	6.4
23	8	II	8.2
24	8	III	6.8
25	9	I	6.0
26	9	II	4.8
27	9	III	8.8
28	10	I	5.6
29	10	II	4.4
30	10	III	7.2
31	11	I	6.5
32	11	II	5.4
33	11	III	3.8

ANEXO 5 – RELAÇÃO DE MÉDIAS DAS ANÁLISES DE CONTAGEM DE COLIFORMES A 45° C EM DL

Data file: Cont_Colif45CEc
 Title: Delineamento Inteiramente Casualizado

Function: ANOVA-1
 Data case no. 1 to 33

One way ANOVA grouped over variable 1 (tratamento)
 With values from 1 to 11

Variable 3 (CC45EC)

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	10	2.560	0.256	5.061	0.0000
Within	22	1.113	0.051		
Total	32	3.673			

Coefficient of Variation = 2.41%

Var.	V A R I A B L E No. 3				
1	Number	Sum	Average	SD	SE
1	3.00	2.35	0.783	0.18	0.06
2	3.00	2.72	0.907	0.08	0.06
3	3.00	2.75	0.917	0.08	0.06
4	3.00	2.56	0.853	0.09	0.06
5	3.00	2.10	0.700	0.11	0.06
6	3.00	4.70	1.567	0.25	0.06
7	3.00	2.90	0.967	0.15	0.06
8	3.00	2.96	0.987	0.19	0.06
9	3.00	2.74	0.913	0.16	0.06
10	3.00	4.70	1.567	0.25	0.06
11	3.00	3.60	1.200	0.53	0.06
Total	33.00	34.080	11.360	2.07	0.63
Within		0.82			

Bartlett's test

 Chi-square = 12.661
 Number of Degrees of Freedom = 10
 Approximate significance = 0.000