

DEDICATÓRIA

A todos quantos amo

A quem dedica parte da sua vida a fazer ciência

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pela dádiva da vida, pelo amor, dedicação e por tudo o que me têm transmitido.

Ao Júlio, por tudo e por ter sido o meu maior incentivo na realização deste mestrado.

Às minhas irmãs, cunhado, sobrinhos, tio e primos, por serem tão próximos e tão presentes.

Aos meus avós, pelo exemplo que são e cuja marca nunca poderá ser apagada.

Aos meus sogros pelo apoio, amizade e principalmente à minha sogra pelo exemplo de coragem e determinação.

A todos os meus amigos, pelo colorido que dão à vida.

A todos os colegas do MAHSME 2010, pelo convívio, partilha e generosidade.

A todos os professores, pelo compartilhar de experiências e do saber.

A todos os que de alguma forma deram o seu contributo neste trabalho.

À Prof. Manuela pela orientação, disponibilidade, apoio, incentivo e dedicação.

A Deus, por ser o autor da (minha) história.

RESUMO

A transmissão de microrganismos patogénicos pode ocorrer através da sua presença em resíduos de alimentos ou água depositados sobre os utensílios que se encontram em deficientes condições de higienização. Para que seja assegurada a higiene alimentar torna-se essencial a conservação e higienização dos utensílios, desempenhando os manipuladores de alimentos um papel determinante no que diz respeito à execução de um eficaz protocolo de higienização, uma correcta manipulação e a adopção de normas higiénicas que evitem a contaminação dos utensílios.

Da totalidade das amostras realizadas aos utensílios alimentares provenientes das duas instituições de ensino pré-escolar analisados neste estudo, 27% encontravam-se contaminadas e num insuficiente estado de higienização devido à presença de microrganismos mesófilos aeróbios a 30°C em número superior a 100 UFC/peça. Foi verificado a presença de fungos e a pesquisa positiva de enterobactérias e bactérias presumíveis de *E. coli*.

Em ambos os estabelecimentos de ensino, os utensílios constituídos por material plástico apresentaram níveis de contaminação na generalidade superiores em relação aos constituídos por aço inoxidável. O tipo de material e o estado dos utensílios são também aspectos relevantes que podem influenciar o processo de adesão microbiana e conseqüente formação de biofilme, pelo que na aquisição dos utensílios devem ser consideradas as características inerentes aos diferentes materiais, devendo os mesmos ser substituídos periodicamente devido ao desgaste causado pelo seu frequente uso. Para além disso, os utensílios devem passar constantemente por uma avaliação microbiológica para controlo da eficiência do processo de higienização, contribuindo para a garantia da higiene alimentar e segurança do alimento. A garantia da higiene alimentar constitui uma base importante em idades de maior vulnerabilidade.

Palavras-chave: Higienização, Utensílios, Higiene Alimentar, Escolas.

ABSTRACT

The transmission of pathogenic microorganisms can be processed by its presence in food waste or water deposited on utensils that are in poor sanitation conditions. In order to ensure food hygiene, it becomes crucial the conservation and sanitation of the utensils, playing the food handlers an important role in what concerns to the execution of an efficient sanitation protocol, a correct manipulation and the adoption of hygienic standards which must avoid the contamination of the utensils.

From all the samples performed to the food utensils from the two pre-school institutions analyzed in this study, 27% were contaminated and in an insufficient sanitation state due to the presence of mesophilic aerobic microorganisms at 30°C in a number above 100 UFC/piece. It was verified the presence of fungi and to the positive research of enterobacteria and bacteria suspected of *E. coli*.

In both school establishments, the utensils made of plastic material presented generally higher levels of contamination compared to the ones made of stainless steel. The type of material and the utensils condition are also relevant aspects that can influence the process of microbial adherence and consequent formation of biofilm, this way when utensils are acquired it should be taken in consideration the inherent characteristics of the different materials, and these should be replaced periodically due to the detrition caused by frequent use. Besides this, the utensils should constantly pass through a microbiologic evaluation in order to control the efficiency of the sanitation process, contributing to guarantee food hygiene and food safety. The guarantee of food hygiene is an important basis in the most vulnerable ages.

Keywords: Sanitation, Utensils, Food Hygiene, Schools.

ÍNDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS/ACRÓNIMOS	VIII
ÍNDICE DE TABELAS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
1. Higiene Alimentar na Manipulação de Alimentos	7
1.1 Factores que Influenciam a Higiene e Segurança Alimentar	10
1.1.1 Condições e Concepção das Instalações e Equipamentos	11
1.1.2 Boas Prática de Fabrico	13
1.1.3 Contaminação Cruzada	15
1.1.4 Higiene e Boas Práticas dos Manipuladores	17
1.1.4.1 Higiene Pessoal	18
1.1.4.2 Higiene das Mãos	18
1.1.4.3 Uniforme de Trabalho	19
1.1.4.4 Estado de Saúde	20
1.1.4.5 Comportamento Pessoal	21
1.1.5 Formação	21
1.1.6 Controlo da Água de Abastecimento	22
1.1.7 Controlo de Pragas	23
1.1.8 Limpeza e Desinfecção	24
1.2 Consequências da Ausência da Qualidade Alimentar	26
1.3 Requisitos Legais	30
1.4 Sistema HACCP como uma Metodologia	31
2. Sistemas de Limpeza e Desinfecção: Higienização	35
2.1 Aspectos Gerais	35
2.2 Aspectos Técnicos da Lavagem e Desinfecção	37
2.2.1 Método de Limpeza	37
2.2.1.1 Agentes de Limpeza Químicos	39
2.2.1.2 Selecção do Agente de Limpeza	41
2.2.2 Método de Desinfecção	43
2.2.2.1 Métodos Físicos	44
2.2.2.2 Métodos Químicos	45
2.2.2.3 Eficácia da Desinfecção	49
2.2.2.4 Escolha do Desinfectante	50
2.2.3 Qualidade da Água	51

2.3	Procedimentos Manuais e Mecânicos de Higienização	52
2.4	Avaliação da Eficácia da Higienização	55
3.	Biofilmes	57
3.1	Os Biofilmes e os Microrganismos	57
3.2	Processo de Formação de um Biofilme	59
3.2.1	Fase da Adesão Inicial e Irreversível	59
3.2.2	Fase de Maturação e Manutenção	62
3.2.3	Fase de Desagregação	64
3.3	Características das Células Microbianas que Favorecem Formação de Biofilmes	65
3.3.1	Flagelos	65
3.3.2	Apêndices de Superfície	65
3.3.3	Polissacarídeos de Superfície	66
3.3.4	Capacidade de Comunicação	66
3.3.5	Resistência Microbiana	67
3.4	Tipologia de Materiais e a Adesão	68
3.5	Formas de Impedir a Formação de Biofilmes	69
CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS		73
1.	Amostra	73
2.	Recolha de Dados	73
2.1	Instrumento	74
2.2	Amostragem e Análise	74
2.2.1	Esfregaços a Utensílios	75
2.2.2	Enriquecimento em Água Peptonada	77
2.2.3	Análise da Água de Lavagem	78
3.	Análise e Tratamento de Dados	80
CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO		82
1.	Avaliação Diagnóstica	82
1.1	Condições Gerais de Instalação e Funcionamento	82
1.2	Loiças e Utensílios	84
1.3	Pré-lavagem Manual	85
1.4	Lavagem/Desinfecção	85
1.5	Detergentes/Desinfetantes	86
1.6.	Secagem	87
1.7	Armazenagem	87
1.8	Manipuladores	87
2.	Avaliação Microbiológica	89

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
ANEXOS	109

ÍNDICE DE ABREVIATURAS/ACRÓNIMOS

ATP	Adenosina Trifosfato
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
DL	Decreto-Lei
DTA	Doenças de Transmissão Alimentar
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMB	<i>Eosin Methylene Blue</i>
EPS	Exopolissacarídica
HACCP	<i>Hazard Analysis Critical Control Points</i>
INSA	Instituto Nacional de Saúde
JI	Jardim-de-Infância
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCC	Ponto Crítico de Controlo
PET	Politereftalato de Etileno
PVC	Policloreto de Vinila
UE	União Europeia
UFC	Unidade Formadora de Colónias

ÍNDICE DE SÍMBOLOS

°C	Grau Centígrado
log	Logaritmo
ml	Mililitro
pH	Grau de acidez/alcalinidade
µm	Micrómetro

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I – Frequência de relatos de surtos de origem alimentar (excluindo os surtos 28 verificados transmitidos pela água) na UE (EFSA, 2011)..... 28	28
Tabela II - Agentes causadores de todos os surtos de origem alimentar declarados na UE, 2009 (EFSA, 2011)..... 29	29
Tabela III – Causas de higienização inadequada (adaptado de Noronha, n. d.) 50	50
Tabela IV – Frequência de incumprimentos dos itens referentes às condições gerais de instalação e funcionamento da cozinha, em cada uma das escolas 82	82
Tabela V – Verificação do cumprimento dos itens críticos por escola 83	83
Tabela VI – Ano de aquisição dos utensílios usados nas escolas..... 84	84
Tabela VII – Agentes químicos usados no processo de higienização da loiça e utensílios 86	86
Tabela VIII – Frequência de contaminação de utensílios com presença de microrganismos mesófilos totais a 30°C e presença de microrganismos do grupo <i>enterobacteriaceae</i> 89	89
Tabela IX – Frequência de contaminação de utensílios, por intervalo de resultados, relativamente ao n.º de microrganismos mesófilos totais a 30°C, para cada estabelecimento de ensino..... 90	90
Tabela X – Isolados bacterianos dos esfregaços..... 96	96
Tabela XI – Isolados bacterianos após enriquecimento em água peptonada 96	96
Tabela XII – Análise microbiológica da água de lavagem – 1ª amostragem..... 98	98
Tabela XIII – Análise microbiológica da água de lavagem – 2ª amostragem 99	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I – Princípios do sistema HACCP.....	33
Figura II - Etapas constituintes do processo de higienização	38
Figura III - Movimento dos equipamentos e utensílios durante o ciclo de higienização (Adaptado de IDHW, 2009)	53
Figura IV – Etapas de desenvolvimento de um biofilme (1) adesão inicial (2) adesão irreversível (3) maturação I (4) maturação II (5) desagregação (<i>Center for Biofilm Engineering Montana State University, 2003</i>).....	59
Figura V – Estrutura de um biofilme (<i>Center for Biofilm Engineering Montana State University, 1996</i>).....	63
Figura VI: Esquematização do processo de comunicação das bactérias - quorum sensing (<i>Center for Biofilm Engineering Montana State University, 2004</i>)	67
Figura VII – Registo Fotográfico de alguns utensílios usados nas escolas em estudo	75
Figura VIII – Registo Fotográfico utensílios sujeitos a enriquecimento em água peptonada ..	78
Figura IX – Registo Fotográfico das máquinas de lavar loiça onde foi colhida a água de lavagem.....	79
Figura X – Estado higiénico global dos utensílios	92
Figura XI – Resultados paramétricos por data de amostragem.....	92
Figuras XII - Contagem de microorganismos mesófilos totais a 30°C por utensílio a) 1ª amostragem na creche; b) 1ª amostragem no JI; c) 2ª amostragem na creche e d) 2ª amostragem no JI	94

INTRODUÇÃO

O conceito de qualidade alimentar, sob a óptica do consumidor, corresponde à satisfação das características organolépticas nomeadamente o sabor, aroma, aparência; entre outras como a embalagem, o preço e a disponibilidade (Pinheiro, Wada & Pereira, 2010). No entanto, o termo alimento seguro significa ausência total de microrganismos patogénicos capazes de originar toxinfecções alimentares, e sem presença significativa de microrganismos da flora degradativa.

A presença de microrganismos nos alimentos não é necessariamente um indicador da sua má qualidade ou risco para a saúde do consumidor, dado que muitas vezes os alimentos só se tornam potencialmente perigosos quando os microrganismos patogénicos estão presentes num determinado nível, consequência de falhas que normalmente se prendem com ausência de higiene, a não aplicação de boas práticas de confecção e de conservação, entre outras.

Milhões de pessoas ficam doentes e muitos morrem devido à ingestão de alimentos não seguros, sendo anualmente afectados cerca de um terço da população dos países desenvolvidos (Organização Mundial da Saúde [OMS], 2007). Na União Europeia e particularmente em Portugal a *Salmonella* foi o agente patogénico mais associado às doenças de transmissão alimentar (DTA), tendo sido identificado como o responsável pela maioria dos internamentos e casos mortais em 2009, estando o maior número de casos relacionados com estabelecimentos da restauração, cafés e similares (*European Food Safety Authority* [EFSA], 2011).

As consequências directas das DTA na saúde humana englobam sintomas que vão desde o desconforto ou incapacidade temporária até à ocorrência de insuficiências renal e hepática, disfunções no sistema nervoso ou mesmo a morte (OMS/FAO, 2002). Paralelamente ocorrem efeitos nefastos na economia e na confiança do consumidor causados pelo absentismo, perdas económicas, desperdício de matérias-primas alimentares e dos efeitos nas transacções comerciais.

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde apesar dos casos de DTA ocorrerem diariamente em todos os países, a maioria deles não é declarado, pelo que não é realmente conhecida a verdadeira dimensão do problema (OMS, 2007). De acordo com estudos realizados pela OMS as toxinfecções alimentares correspondem às DTA mais comuns, cuja origem advém em mais de 60% dos casos de técnicas inadequadas de manipulação, processamento e contaminação dos alimentos servidos em restaurantes (Rossi, 2006).

Segundo Andrade e Macêdo (1996) o estado de higiene deficiente dos equipamentos e utensílios por si só, ou em associação com outros factores, tem sido responsável por surtos de DTA ou por alterações de alimentos processados. De acordo com Freitas (1995) há evidência que a contaminação de utensílios e equipamentos está associada ao aparecimento de aproximadamente 16% dos surtos causados por DTA.

Entre os factores relacionados com as DTA salienta-se a higiene e desinfecção das superfícies de contacto com alimentos, equipamentos e ambientes de processamento, nomeadamente aquelas propícias à formação de biofilme por *Listeria monocytogenes* e *Salmonella*. A presença de água e a acumulação de substrato em superfícies indevidamente higienizadas favorece o desenvolvimento de biofilme, podendo este ser constituído por microrganismos patogénicos (Boulangue-Peterman, Barroux & Bellon-Fontaine, 1993).

Uma adequada limpeza e desinfecção visa, em última análise, a eliminação de microrganismos e contaminantes químicos de modo a prevenir infecções ou intoxicações, sendo este o processo através do qual se elimina ou reduz para níveis seguros a flora microbiana presente no equipamento e/ou utensílios. A obtenção de um resultado eficaz no processo de higienização e que não comprometa a qualidade final da limpeza e da desinfecção, depende de quatro factores interligados e complementares entre si, nomeadamente o factor químico associado ao produto de limpeza/desinfecção; o factor mecânico relacionado com o equipamento; o factor temperatura associado à água e o factor inerente ao tempo de actuação dos produtos (Pinto & Neves, 2010).

Um outro aspecto associado à alteração do estado de qualidade dos alimentos é a contaminação cruzada, que pode ocorrer quando o alimento passa por superfícies contaminadas ou se encontra exposto a aerossóis ou condensados com origem a partir de superfícies contaminadas (Boulangue-Peterman *et al.*, 1993). Assim, para além da eficácia

do processo de limpeza e desinfecção são considerados outros elementos que traduzem indirectamente o estado higiénico dos utensílios: as condições de armazenagem, meios utilizados de secagem de loiça, tempo de exposição da loiça ao ar, controlo de pragas, bem como, as práticas de higiene e procedimentos por parte dos manipuladores de alimentos.

O tipo de material, o design e o estado de conservação dos utensílios são factores importantes relacionados com o estado higiénico dos mesmos. O material dos equipamentos e utensílios que entram em contacto com os alimentos não deve transmitir substâncias tóxicas, odores e sabores, devendo ser não absorvente e, resistente à corrosão e às repetidas operações de limpeza e desinfecção. As superfícies devem ser lisas e estarem isentas de rugosidade e frestas, ou outras imperfeições que comprometam a higiene dos alimentos através do desenvolvimento de microrganismos nestes locais.

Por outro lado independentemente do tipo de material constituinte dos utensílios, a possibilidade da bactéria aderir à sua superfície compromete a higiene desses materiais, pelo que desta forma, duas opções devem ser consideradas na resolução da questão: a mudança dos materiais aplicados em utensílios de manipulação de alimentos e o desenvolvimento de novos produtos e protocolos de higienização dessas superfícies (Meyer, 2003).

As transformações e o desenvolvimento tecnológico, a emergência de novas estirpes de microrganismos patogénicos, transversal ao processo de globalização mundial, envolvem a própria cadeia alimentar (entre outras áreas) sendo necessário dar ênfase à segurança dos alimentos de modo a promover saúde e prevenir danos à saúde pública. O *Codex Alimentarius* criado conjuntamente pela OMS e pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação, inclui recomendações internacionais sobre os princípios gerais de higiene alimentar. Estas directrizes tornaram-se um ponto de referência mundial para todos os intervenientes ao longo da cadeia alimentar, nomeadamente agricultores e criadores, fabricantes e processadores, manipuladores de alimentos e consumidores (OMS/FAO, 2003).

O Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia aprovaram o Regulamento nº 852/2004 de 29 de Abril que estabelece as regras gerais destinadas aos operadores das empresas do sector alimentar no que se refere à higiene dos géneros alimentares,

estabelecendo como obrigatória a aplicação geral dos procedimentos baseados nos princípios do sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), da sigla inglesa *Hazard Analysis Critical Control Points*. Este sistema baseia-se num conceito preventivo aplicável a todas as etapas da cadeia alimentar, desde o campo até à mesa do consumidor e visa a certificação de alimentos seguros através da aplicação de uma metodologia sistemática que identifica, controla e corrige potenciais perigos antes que a contaminação possa ocorrer, de forma a evitá-la (Pinto & Neves, 2010).

O Plano Nacional de Saúde tem definidas prioridades baseadas na evidência científica, cujo objectivo é o de obter ganhos em saúde, quer a médio como a longo prazo. O Programa Nacional de Saúde Escolar coordenado pelo Alto-Comissário da Saúde, com orientação técnica da Direcção-Geral da Saúde e em articulação com o Ministério da Educação propõem uma intervenção que assenta na vigilância e protecção da saúde e a aquisição de conhecimentos, capacidades e competências na promoção da saúde (DGS, 2006a). O impacto de deficientes condições básicas de vida e ambientais, tais como a poluição do ar interior e exterior, a água insalubre, os alimentos inseguros, o saneamento básico impróprio, as construções inadequadas, entre outros, faz-se sentir sobretudo na saúde das crianças, especialmente com idades inferiores a 6 anos, faixa etária mais vulnerável. Cabe à escola dirigir esforços na procura de um ambiente mais saudável para as crianças, de modo a reduzir a exposição das crianças aos riscos físicos, químicos e biológicos (DGS, 2006a).

Uma Escola Promotora da Saúde assenta nas vertentes currículo, ambiente e interacção escola/família/meio e “ao constituir-se como um espaço seguro e saudável, está a facilitar a adopção de comportamentos mais saudáveis, encontrando-se por isso numa posição ideal para promover e manter a saúde da comunidade educativa e da comunidade envolvente.” (DGS, 2006a).

No âmbito da saúde escolar, mais especificamente no âmbito da higiene alimentar, foi objectivo deste trabalho avaliar a qualidade higiénica de utensílios utilizados nas refeições de duas instituições do ensino pré-escolar. Nesse sentido foram delineados como objectivos específicos a realização de um diagnóstico relativamente ao processo de higienização de loiças e utensílios adoptado em cada estabelecimento escolar; bem como a

avaliação da qualidade microbiológica dos utensílios de plástico e aço inoxidável utilizados em ambas as escolas.

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Higiene Alimentar na Manipulação de Alimentos

Pensa-se que os problemas inerentes a alterações e toxinfecções alimentares surgiram há cerca de um milhão de anos atrás, quando o homem passou a colector de alimentos e introduziu o processo de cozedura dos alimentos. Em simultâneo com a sua preparação surgiram situações de doença ocasionadas quer pelos próprios alimentos, quer pela rápida deterioração causada por um armazenamento inadequado. Actualmente a Higiene e Segurança Alimentar constitui uma prioridade importante no mercado globalizado em que vivemos, com o transporte interfronteiriço de matérias-primas e a variedade de técnicas aliadas ao processamento, colocando a avaliação de alimento seguro numa plataforma nacional, europeia, transatlântica, ou mesmo planetária (Forsythe, 2002).

A Higiene Alimentar é definida pelo *Codex Alimentarius* como o conjunto de todas as condições e medidas necessárias para garantir a segurança e adequação dos alimentos em todas as fases da cadeia alimentar (OMS/FAO, 2003), pelo que a sua abrangência não deverá ser resumida à preparação de refeições, mas ser transversal a todas as etapas da cadeia alimentar, nomeadamente na produção, na distribuição, na recepção, na preparação e no empratamento.

No sector da restauração, onde normalmente estão associados os estabelecimentos comerciais, também se incluem os estabelecimentos de ordem social como escolas ou lares, cuja actividade se encontra ajustada ao tipo e volume de população à qual o serviço é prestado (Baptista & Linhares, 2005). Particularmente em ambiente escolar, a disponibilização de alimentos e refeições às crianças deve obrigatoriamente enquadrar o equilíbrio nutricional e a higiene e segurança alimentar, eliminando ou reduzindo o risco de toxinfecção alimentar.

As cantinas escolares devem assegurar a inocuidade, salubridade e uma adequada conservação das refeições que disponibilizam, podendo no entanto existir falhas de função como a não adopção de boas práticas por parte dos manipuladores de alimentos, por razões

de negligência ou de desconhecimento, e consequente ocorrência de DTA (Griffith, Worsfold & Mitchell, 1998).

A ocorrência de situações que envolvam risco pode causar doenças de origem alimentar, infecções alimentares ou intoxicações alimentares. O efeito adverso para a saúde associado às doenças provocadas pela ingestão de alimentos contaminados constitui uma enorme preocupação principalmente para os grupos mais vulneráveis, nomeadamente lactentes, crianças, idosos e outros indivíduos cujo sistema imunitário se encontre fragilizado.

A prevenção das DTA passa por um conhecimento dos perigos, quer estes sejam causados por agentes físicos, químicos ou biológicos, bem como pela implementação de programas preventivos de autocontrolo, como o da análise de perigos e pontos críticos de controlo do sistema HACCP. Estas medidas visam reduzir as fontes de contaminação e os meios de transmissão dos agentes que causam efeitos indesejáveis nos alimentos e na saúde dos consumidores, centrando-se em termos gerais na higiene pessoal, aprovisionamento, preparação, controlo de temperaturas e higienização do equipamento e instalações.

Ao abrigo da Lei n.º159/99 é da competência dos órgãos municipais participar no planeamento e gestão dos equipamentos educativos, nomeadamente nos estabelecimentos de ensino público pré-escolar, pelo que a alimentação escolar nestes estabelecimentos são da responsabilidade das autarquias, cabendo-lhes a função de investir na construção, manutenção e gestão dos refeitórios. Enquanto no sector privado cabe às próprias instituições efectuar também esse tipo de gestão, sendo que a intervenção na área da alimentação está dependente da maior ou menor capacidade orçamental e da própria sensibilidade dos organismos gestores.

No Programa Nacional de Saúde Escolar está contemplado serem efectuadas avaliações relativamente às condições de segurança, higiene e saúde dos estabelecimentos de ensino, realizada pelas equipas de saúde escolar em estreita articulação com os serviços de saúde pública e em parceria com os órgãos de gestão dos estabelecimentos de educação e ensino. Nesse âmbito são efectuadas visitas às escolas para avaliação/reavaliação anual por forma a permitir monitorizar e actualizar as condições de segurança, higiene e saúde e simultaneamente verificar o cumprimento de eventuais correcções e/ou beneficiações (DGS, 2006a).

No formulário que serve de instrumento para a avaliação efectuada nas escolas, a saber, “Avaliação das Condições de Segurança, Higiene e Saúde dos Estabelecimentos de Educação e Ensino” (DGS, 2006b) encontra-se também contemplada uma avaliação à zona de alimentação colectiva nas componentes segurança e higiene, onde para além da cozinha estão também contemplados o refeitório, bar e o bufete. Assim as 55 questões referentes ao serviço alimentar pretendem avaliar itens como a “segurança”, “estrutura e equipamento”, “produtos alimentares e refeições”, “bufete”, “cozinha”, “refeitório”, “manipuladores de alimentos” e “catering”, sendo a avaliação global das condições de segurança, higiene e saúde efectuada de acordo com o grau de gravidade atribuído a cada *item*, do qual resulta a classificação da escola em «Boa», «Razoável» ou «Má», estabelecendo-se assim uma análise qualitativa comparativa com o objectivo de introduzir melhorias no decorrer das actividades desenvolvidas no desenrolar do programa.

Ainda em prol da segurança alimentar em meio escolar, o Ministério da Educação criou através da Direcção Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular, a Circular nº14/DGIDC/2007 de 25 de Maio, referente a Refeitórios Escolares e Normas Gerais de Alimentação. Da circular constam cinco anexos dos quais três se referem directamente a questões de segurança alimentar, a saber “Anexo C - Higiene e Segurança Alimentar”, “Anexo D - Equipamentos e Utensílios” e “Anexo E - Legislação em Vigor”, sendo que o Anexo B, denominado Ementas contém também diversos pontos referentes à segurança alimentar. Esta circular prevê que o fornecimento de refeições deve obedecer às normas constantes do Regulamento (CE) n.º 852/2004, pelo que as escolas têm a obrigatoriedade de implementar o sistema HACCP.

Dois estudos efectuados no âmbito da avaliação das condições higio-sanitárias das instalações, equipamentos e procedimentos de manipulação em cantinas escolares e que utilizaram o mesmo instrumento de avaliação, revelaram que ambas as populações em estudo, nomeadamente 32 escolas do 2º e 3º Ciclos do distrito de Vila Real e 40 jardins-de infância e Escolas Básicas do 1º Ciclo do Município de Penafiel, apresentavam na sua generalidade condições estruturais e higio-sanitárias minimamente satisfatórias, embora não cumprissem com alguns dos pré-requisitos recomendados para este tipo de estabelecimentos. As não conformidades estruturais convergentes em ambos os estudos apontam para a ausência quase sistemática de lavatórios exclusivos e devidamente equipados para a higienização das mãos; a não separação estrutural entre zonas de

preparação de alimentos com diferentes níveis de risco; a ineficácia dos sistemas de ventilação e extracção de fumos; bem como a inexistência de mecanismos de visualização das temperaturas no equipamento de frio e respectivos registos. Das não conformidades funcionais foi destacado o armazenamento e acondicionamento incorrecto dos produtos congelados e refrigerados; a inexistência de planos de controlo de pragas; a inexistência de planos de limpeza e desinfeção das instalações; a inexistência de planos de auto-controlo e falta de formação dos manipuladores. Tendo sido considerado que as falhas detectadas a nível estrutural e funcional poderão comprometer a segurança dos alimentos servidos nesses estabelecimentos, apontando os resultados obtidos para a necessidade de serem tomadas medidas que visem a eliminação dos problemas encontrados, bem como efectuar uma supervisão e gestão de aspectos relacionados com boas práticas de higiene alimentar. Tendo sido ainda salientado a necessidade da adopção da metodologia HACCP, bem como o empenho conjunto das várias entidades no sentido das cantinas escolares apresentarem elevados padrões de higiene e segurança alimentar (Barros, Lameiras & Rocha, 2008; Santos, Nogueira & Mayan, 2007).

1.1 Factores que Influenciam a Higiene e Segurança Alimentar

Numa conferência realizada em 2003 em Budapeste, organizada no âmbito do projecto de acção concertada da Rede de Informação de Análise de Risco da União Europeia (*European Union Risk Analysis Information Network [EU-RAIN]*, 2003) que reuniu cientistas, chefes de cozinha, representantes dos consumidores e das agências de segurança alimentar de vários países, foi debatido o tema “Segurança Alimentar na Restauração: uma responsabilidade ignorada?” (*“Catering Food Safety: A responsibility Ignored?”*). Posteriormente foi elaborado um relatório das várias abordagens e conclusões, tendo sido identificados os principais factores que contribuem para a ocorrência de toxinfecções alimentares em unidades de restauração, designadamente: matérias-primas contaminadas; manipulações inadequadas que originam contaminações cruzadas; controlo inadequado das temperaturas na confecção, descongelamento, reaquecimento, banho-maria e na armazenagem no frio; má higiene pessoal; manipuladores de alimentos infectados; má higiene das instalações, equipamentos e utensílios; utilização de panos da loiça e esponjas para diversas funções; alimentos preparados com muita antecedência; alimentos

preparados em grandes quantidades; armazenagem à temperatura ambiente; e demora na distribuição.

Do vasto campo de abordagens que podem ser consideradas em termos da higiene alimentar, serão focados alguns factores atrás mencionados, que poderão exercer uma acção preponderante e com repercussões directas ou indirectas sobre a qualidade da oferta alimentar.

1.1.1 Condições e Concepção das Instalações e Equipamentos

Uma das premissas importantes inerentes à garantia de uma oferta alimentar em condições de higiene e segurança é a própria concepção das instalações, que deverá ser pensada tendo em conta os requisitos legais e de modo a ser atingido o objectivo de eliminar/reduzir os potenciais perigos e riscos associados.

Relativamente ao edifício em si torna-se importante assegurar a criação de condições favoráveis, nomeadamente o acesso preferencial à luz natural ou uma boa iluminação artificial; providenciar entradas de ar puro vindo do exterior através da construção de vãos nas fachadas, ou por acção de equipamentos mecânicos que permitam a entrada e circulação de ar renovado; assim como deverá estar prevista a ligação com a rede pública de água e saneamento ou no caso de impossibilidade, a utilização de outro sistema que ofereça garantia de qualidade, segurança e controlo.

Logo na fase de projecto das instalações a configuração interna dos estabelecimentos do ramo alimentar deve assegurar as boas práticas de higiene, incluindo a prevenção da ocorrência da contaminação cruzada entre e durante todas as operações inerentes ao processo (OMS/FAO, 2003).

Tanto o *lay-out* como o design das instalações e equipamentos deverão ser pensados de modo a assegurar que a sua disposição, concepção, construção, localização e dimensão respeitem as especificações referidas no Regulamento (CE) nº 852/2004 para as empresas do ramo alimentar, nomeadamente:

- Permitir a manutenção e a limpeza e/ou desinfecção adequadas, evitar ou minimizar a contaminação por via atmosférica e facultar um espaço de trabalho adequado para permitir a execução higiénica de todas as operações;
- Permitir evitar a acumulação de sujidade, o contacto com materiais tóxicos, a queda de partículas nos géneros alimentícios e a formação de condensação e bolores indesejáveis nas superfícies;
- Possibilitar a aplicação de boas práticas de higiene e evitar nomeadamente a contaminação e, em especial, o controlo dos parasitas;
- Proporcionar, sempre que necessário, condições adequadas de manuseamento e armazenagem a temperatura controlada, com uma capacidade suficiente para manter os géneros alimentícios a temperaturas adequadas e ser concebidas de forma a permitir que essas temperaturas sejam monitorizadas.

De acordo com os vários diplomas legais com aplicação no ramo alimentar, todos os materiais utilizados nos revestimentos de tectos, pavimento, paredes ou outras divisórias deverão apresentar características que permitam uma manutenção, limpeza e desinfecção adequadas, nomeadamente deverão ser lisos, impermeáveis, não absorventes, laváveis e não tóxicos. Sendo também recomendável que todos os ângulos e cantos entre paredes, pavimentos e tectos sejam construídos em forma arredondada, por forma a facilitar o processo de higienização.

Também as superfícies de trabalho das zonas em que os géneros alimentares são manuseados, incluindo as dos próprios equipamentos, deverão ser constituídas por materiais lisos, laváveis, resistentes à corrosão e não tóxicos.

A própria disposição do equipamento deverá permitir uma manutenção e limpeza adequadas, assim como garantir o seu funcionamento de acordo com a utilização prevista e facilitar as boas práticas de higiene, incluindo a monitorização (OMS/FAO, 2003).

Segundo Sprenger (2008) os locais onde os géneros alimentícios são preparados, tratados ou transformados, nomeadamente as cozinhas deverão apresentar um design que vá ao encontro das necessidades dos trabalhadores e que satisfaça os requisitos de segurança, sendo que no desenho do seu *lay-out* deverão ser respeitadas as seguintes características:

- Fluxos de trabalho devidamente separados e identificados;
- Definição de áreas e serviços específicos para os fins alocados;
- Economia de provisão de espaço de forma compatível com boas práticas de higiene.

No planeamento da instalação de uma cozinha é essencial que esteja prevista uma adequada separação entre “áreas sujas” e “áreas limpas” inerentes às operações de armazenamento, preparação, confecção, empratamento e distribuição. Devendo ser previsto um “circuito marcha em frente” por forma a evitar contaminações dos alimentos manipulados através de contacto directo ou indirecto com o pessoal, utensílios ou matérias-primas.

Um outro aspecto a salientar e de acordo com o referenciado no Regulamento (CE) n.º 852/2004, é a presença de um número adequado de lavatórios diferenciados de acordo com o uso, nomeadamente para a lavagem de diferentes tipos de alimentos, lavagem de loiça e a lavagem das mãos dos funcionários. Estes últimos deverão se encontrar permanentemente equipados com torneira de comando não manual, água quente e fria e materiais de limpeza das mãos e dispositivos de secagem higiénica.

Deverão ainda existir instalações de apoio para os funcionários, nomeadamente instalações sanitárias e vestiários, não devendo as mesmas comunicarem directamente para os locais onde se manuseiem alimentos. Estes espaços deverão estar munidos dos equipamentos adequados, bem como deverão também estar previstos locais específicos para os funcionários poderem guardar a sua roupa e objectos pessoais.

1.1.2 Boas Prática de Fabrico

As Boas Práticas de Fabrico abrangem os princípios, procedimentos e meios considerados essenciais para uma produção de alimentos segura e com qualidade, devendo ser devidamente aplicadas e documentadas as condições tidas como relevantes para o fabrico higiénico de alimentos (Forsythe, 2002).

Sendo a manipulação de alimentos um factor transversal às várias etapas do processo de confecção, bem como um aspecto importante a considerar quando se pretende salvaguardar

a qualidade e segurança dos produtos alimentares, torna-se fundamental serem adoptadas determinadas regras de modo a que esse processo seja realizado em segurança, nomeadamente e de acordo com Pinto e Neves (2010) as seguintes:

- Manter os alimentos manipulados separados dos alimentos crus;
- Manter um alimento quente a uma temperatura nunca inferior a 65°C no seu interior;
- Utilizar sempre luvas descartáveis na manipulação de alimentos cozinhados;
- Efectuar a prova de alimentos de uma forma higiénica, através do uso de utensílios próprios e nunca com os dedos;
- Reduzir ao mínimo o tempo entre a armazenagem e a preparação; a preparação e a confecção; a confecção e o embalamento; o embalamento e o consumo.

A confecção de alimentos pode ser realizada de diversas formas, sendo utilizados métodos como cozer, estufar, grelhar, assar ou fritar, em que ocorre uma transferência de calor entre determinada fonte e os alimentos. Através desta etapa é possível eliminar total ou parcialmente os microrganismos que possam estar presentes nos alimentos e ao mesmo tempo tornar o alimento agradável ao gosto e ao paladar.

Conhecer de um modo adequado os mecanismos e as formas de confeccionar os alimentos, é fundamental em todo o processo, de modo a garantir a segurança dos mesmos, devendo-se ter em consideração aspectos como adequadas temperaturas de confecção, controlo de tempos de espera, condições de exposição dos alimentos, contacto com equipamentos, entre outros que contribuam para evitar a contaminação e multiplicação bacteriana.

Dos vários métodos de confecção deverá dar-se particular atenção à fritura, nomeadamente no que diz respeito à qualidade dos óleos utilizados, devendo esta ser diariamente controlada quer através de testes calorimétricos, quer através de verificação das características associadas à alteração da gordura, tais como formação de espuma, cor escura e turva, forte formação de fumos e odor irritante e desagradável. Num estudo onde foi efectuada a avaliação da qualidade do óleo de fritura em 44 estabelecimentos de restauração do concelho da Maia foi verificado, através da aplicação do método calorimétrico e do método físico medido no equipamento Fri-Check, que das 195 amostras de óleo analisadas 19,5% apresentaram resultados não conformes, contendo teores de

compostos polares superiores a 25%. Esta avaliação evidenciou a necessidade de serem garantidas condições e procedimentos de fritura adequados através da sensibilização e formação dos manipuladores sobre os factores que condicionam a degradação do óleo de fritura, evitando a acumulação de substâncias tóxicas de modo a prevenir situações de risco para a saúde dos consumidores (Fernandes, Silva & Freitas, 2010).

Um outro aspecto a ter em consideração é o tratamento a dar às sobras de alimentos que foram confeccionados, mas não chegaram a ser servidos e consumidos, que deverá ser efectuado com a máximo cuidado, podendo estas ser reaproveitadas desde que seja assegurado o seguinte (Pinto & Neves, 2010):

- Ser mantida a cadeia de frio, não podendo permanecer à temperatura ambiente;
- Quando quentes, ser rapidamente arrefecidas até uma temperatura de 3°C, sendo posteriormente acondicionadas e refrigeradas;
- Não ser reaproveitadas em conjunto com novos produtos;
- Acondicionadas com indicação da totalidade dos ingredientes e da data de produção;
- Ser rejeitadas quando após conservadas terem sido colocadas uma segunda vez à temperatura ambiente;
- Não deverá se efectuar um reaproveitamento das sobras de produtos lácteos ou ovos.

1.1.3 Contaminação Cruzada

Um dos vários factores que contribuem para que um alimento possa se tornar inseguro, com agravamento do risco de ocorrência de toxinfecções alimentares é a contaminação cruzada, que de acordo com o *Codex Alimentarius* acontece quando os microrganismos patogénicos se propagam de um alimento contaminado para outro que não esteja contaminado, ou que se encontre pronto para consumo. Também podendo ocorrer por intermédio dos agentes que os manipulam, superfícies de contacto ou através do próprio ar. Essa transferência de microrganismos pode ter, entre outras, as seguintes origens:

- As mãos dos manipuladores, por exemplo, quando se manipulam alimentos crus e seguidamente alimentos confeccionados e prontos para consumo ou quando as

mãos que contactam com os diferentes alimentos não forem lavadas após mudança de tarefa;

- Os salpicos de saliva, espirros ou tosse dos operadores, quando não são adoptados comportamentos seguros por forma a evitar a contaminação dos alimentos;
- Os utensílios, superfícies de trabalho, farda ou outros equipamentos, quando por exemplo, é utilizada a mesma faca para cortar alimentos crus e cozinhados, sem ter havido uma correcta higienização entre as duas utilizações, ou quando se usa a mesma bancada para o fim acima referido;
- Os alimentos contaminados, como o caso de um produto em fase de descongelação não estar devidamente embalado e acondicionado e libertar sucos que contaminem alimentos já confeccionados;
- As condições ambientais, quando por exemplo o ar contém microrganismos aderidos a partículas de pó que por via da gravidade se depositam nos alimentos ou utensílios.

Por forma a evitar a ocorrência deste tipo de contaminação é fundamental conhecerem-se as fontes, veículos e trajectos de contaminação, assim como as formas de controlo que se poderão aplicar sobre cada um destes factores no âmbito da prevenção. Nesse sentido deverão ser implementadas medidas ou que removam as fontes de contaminação, ou que criem barreiras entre elas e os veículos de contaminação, ou entre estes e os alimentos (Sprenger, 2008).

Dada a complexa inter-relação entre fontes, veículos e alimentos o que permite aos contaminantes levar a cabo diferentes rotas até chegar ao alimento, torna-se necessário estabelecer um abrangente leque de medidas preventivas, salientando-se as seguintes:

- Impedir o contacto ou proximidade dos alimentos sujos com todos os outros alimentos, tanto crus como confeccionados;
- Impedir o contacto ou proximidade de alimentos crus com alimentos cozinhados;
- Manter os alimentos bem acondicionados e protegidos;
- Efectuar as operações que envolvam o manuseamento de alimentos crus em áreas separadas ou locais especificamente concebidos para esse efeito;
- Minimizar o manuseamento dos alimentos;
- Colocar os alimentos crus nas prateleiras inferiores dos frigoríficos;

- Usar panos de limpeza preferencialmente de uso descartável;
- Dotar as torneiras de comando não manual;
- Limitar o número de superfícies que entrem em contacto com os alimentos;
- Proceder a uma higienização adequada das mãos, utensílios, instalações e equipamentos;
- Usar utensílios identificados por cores que correspondam aos diferentes tipos de alimentos.

1.1.4 Higiene e Boas Práticas dos Manipuladores

O manipulador pode ser uma via de contaminação dos alimentos produzidos em larga escala, desempenhando um papel importante na segurança e preservação da higiene dos alimentos durante toda a cadeia produtiva, o que inclui as fases de recepção, armazenamento, preparação e distribuição. A manipulação incorrecta e o descuido em relação às normas higiénicas favorecem a contaminação através de microrganismos patogénicos, que por sua vez, podem lesar a saúde do consumidor (Pinheiro, Wada & Pereira, 2010).

Num estudo efectuado por Andrade, Silva e Brabes (2003), onde 68 manipuladores de alimentos de 12 unidades de alimentação foram submetidos à avaliação microbiológica das mãos, verificou-se em 88% deles resultados de contagem de microrganismos mesófilos aeróbios superiores a 100UFC/mão. As percentagens foram de 45, 46 e 28 para os coliformes totais, para fungos/ leveduras e para o *S.aureus*, respectivamente, revelando os resultados que os estabelecimentos operavam com um elevado risco de ocorrência de toxinfecções alimentares. Um outro estudo realizado para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos fornecidos em escolas públicas do município de Lavras, evidenciou que apenas 3 das 8 amostras efectuadas apresentavam um adequado padrão de qualidade alimentar. Os resultados que se revelaram não conformes devido a microrganismos mesófilos aeróbios, coliformes e *E.coli* denotam a falta de um controlo higio-sanitário na manipulação de alimentos, dado que são indicadores de risco para a saúde dos consumidores, evidenciando ainda falhas de higiene (Borges, Mendonça & Batista, n.d.).

A relação entre más práticas de higiene dos manipuladores e a ocorrência de DTA, tem sido frequentemente referida na literatura, associada a manipuladores doentes ou portadores assintomáticos e que apresentem hábitos inadequados de higiene pessoal ou de preparação de alimentos. A tomada de consciência, por parte dos manipuladores, da sua importância na produção de alimentos seguros é fundamental para garantir a protecção da saúde dos consumidores.

1.1.4.1 Higiene Pessoal

O conceito de higiene pessoal reporta-se ao estado geral de limpeza quer do corpo como do vestuário dos manipuladores de alimentos, sendo as cavidades nasais, boca, pele e tracto gastrointestinal dos humanos importantes fontes de contaminação microbiana devido a práticas de higiene precárias.

Pelo que qualquer pessoa que manuseie alimentos deve manter um elevado grau de higiene pessoal ao nível do corpo, uniforme e calçado, devendo no decurso da sua actividade profissional comportar-se de modo apropriado, seguindo todas as regras de higiene estipuladas. Este padrão de higiene deve ser fomentado pois nem sempre é cumprido por parte das manipuladoras de alimentos, devendo-se em parte ao facto de por vezes serem pessoas de uma posição social e nível cultural baixo, havendo de acordo com estudos uma correlação entre o nível educacional e o nível de higiene pessoal (Sangole, Lanjewar & Zodpey, 2002).

1.1.4.2 Higiene das Mãos

As mãos são das principais fontes de contaminação bacteriana dos alimentos, sendo do senso comum que uma adequada lavagem e secagem das mesmas são factores importantes no controle da infecção. Igualmente tem vindo a ser documentada a eficácia da realização das várias etapas inerentes ao processo de lavagem das mãos na diminuição da flora bacteriana da superfície da pele (Borges, Silva & Gontijo Filho, 2007).

Para esse efeito deverá ser efectuada uma correcta lavagem e desinfectação das mãos, com recurso a equipamento adequado, nomeadamente um lavatório de comando não manual e de uso exclusivo para esse fim, soluto bactericida (ou um sabonete líquido e um

desinfectante), assim como toalhas descartáveis de papel e um recipiente para o lixo com tampa accionada por pedal.

Segundo o estipulado no *Codex Alimentarius* os manipuladores deverão lavar as mãos sempre que a limpeza pessoal possa afectar a segurança dos alimentos, por exemplo no início do trabalho; antes do manuseamento de alimentos; depois de manipular alimentos crus; depois de manipular e/ou transportar resíduos ou qualquer material contaminado; depois de manipular produtos químicos (limpeza e desinfecção) e após a utilização das instalações sanitárias.

Pragle, Harding e Mack (2007) apontam o ensino e a formação dos manipuladores como o factor mais importante na aquisição de conhecimentos, sendo determinante para a lavagem correcta das mãos. Também as unhas deverão se encontrar em bom estado de higiene com vista a prevenir os riscos de contaminação dos alimentos, devendo apresentar-se sempre curtas, limpas e sem verniz, não sendo adequado o uso de unhas postiças.

A utilização de luvas descartáveis deve se reportar a tarefas específicas, sendo importante antes de as calçar de se proceder a uma lavagem prévia e adequada das mãos, devendo também considerar-se o aspecto que a tarefa deve ser efectuada sem interrupção de modo a evitar o risco de contaminação cruzada.

1.1.4.3 Uniforme de Trabalho

No âmbito da segurança alimentar os manipuladores devem usar vestuário adequado, cobertura para a cabeça e calçado que confira protecção. Desde que se apresente ao serviço o funcionário deve equipar-se convenientemente com bata, touca e calçado em bom estado de asseio e preferencialmente de cor clara e sem bolsos externos.

Esta indumentária deverá ser fornecida aos profissionais num conjunto de várias mudas de uniformes completos, de modo a assegurar a possibilidade de troca, devendo ser dada atenção ao seu bom estado de higiene bem como uso adequado, sendo que este equipamento não deve ser usado fora do local em que os géneros alimentares são preparados.

Os adornos pessoais constituem um factor de risco, podendo inadvertidamente cair e incorporarem os alimentos, ou favorecer o crescimento bacteriano nos alimentos com os quais entram em contacto, visto que facilmente acumulam sujidade. Conforme o articulado legal não é permitido nas áreas de manuseamento de alimentos o uso de jóias, relógios, pulseiras, brincos, piercings, entre outros, pois podem constituir um perigo para a segurança e adequação dos alimentos. Todos estes adereços, bem como outros objectos pessoais devem ser guardados em local adequado nos vestiários (Baptista & Saraiva, 2003).

Os mesmos preceitos aplicam-se a pessoas que visitem as áreas de fabrico, processamento ou manuseamento de alimentos, devendo estas usar vestuário de protecção, bem como adoptar adequadas regras de higiene.

1.1.4.4 Estado de Saúde

Ao abrigo do DL 109/2000 de 30 de Junho e na salvaguarda da qualidade da oferta alimentar e de modo a evitar a probabilidade de contaminação directa ou indirecta, todos os funcionários devem fazer exames médicos de admissão, de rotina ou ainda caso haja indicação clínica ou epidemiológica.

E de acordo com a legislação vigente, não são autorizadas a entrar em quaisquer áreas de manuseamento de alimentos portadores de alguma patologia facilmente transmissível através dos alimentos, ou que se encontrem em estado de icterícia, diarreia, vómitos, febre, dores de garganta acompanhadas de febre, lesões na pele visivelmente infectadas ou corrimento dos ouvidos, olhos ou nariz.

Caso um manipulador de alimentos apresente este tipo de sintomatologia deve informar o responsável do respectivo sector alimentar para que a necessidade de exame médico e possível exclusão do manuseamento de alimentos seja equacionada. Relativamente aos cortes e queimaduras, estes constituem pontos de lesão na pele onde os microrganismos se podem desenvolver, pelo que caso se decidir que o manipulador pode continuar a trabalhar, o corte ou queimadura deve estar devidamente tapado com pensos coloridos e impermeáveis, devendo ser usadas luvas descartáveis.

1.1.4.5 Comportamento Pessoal

Os trabalhadores que preparem, tratem ou transformem géneros alimentícios devem evitar comportamentos que possam resultar na contaminação dos mesmos, por forma a eliminar ou corrigir alguns gestos pessoais inapropriados, tais como fumar no local de trabalho; tossir ou espirrar sobre os alimentos, equipamento ou utensílios; beber, comer ou mascar durante o serviço; tocar na boca, nariz, cabelo e rosto durante a manipulação dos alimentos.

As regras de higiene devem ser afixadas em locais apropriados, podendo ser acompanhadas por sinalética apropriada, de modo a que sejam recordadas e salvaguardadas pelos operadores do sector alimentar, tais como as indicadas por Pinto e Neves (2010):

- “Lave as mãos, antebraços e unhas, ao usar o sanitário.”
- “Lave as mãos antes de entrar nas instalações.”
- “Não mexa nos cabelos, nariz ou orelhas enquanto estiver a manipular alimentos.”
- “Não espirre, tussa ou assoe o nariz perto de alimentos, equipamentos e utensílios.”
- “Use sempre que necessário luvas e máscaras quando manipular directamente alimentos, devendo as mesmas estar em perfeitas condições de uso.”
- “Use uniformes sempre limpos.”
- “Não use anéis, brincos, pulseiras, relógios, outros adornos, unhas compridas, esmaltes e perfumes, quando estiver a trabalhar.”
- “Lembre-se: o uso de luvas deve ser complemento à perfeita higiene das mãos.”

1.1.5 Formação

A formação periódica e treinamento básico das pessoas envolvidas em operações que tenham contacto directo ou indirecto com alimentos, no que concerne à higiene e segurança alimentar e boas práticas, constituem um ponto fulcral no âmbito da segurança alimentar.

Todo o pessoal deve estar consciente das repercussões do seu papel e responsabilidades na prevenção da contaminação ou deterioração dos géneros alimentares, devendo dispor de

conhecimentos e qualificações necessárias para o desempenho das suas funções (OMS/FAO, 2003).

Em última análise a finalidade da formação é contribuir para a minimização e/ou eliminação do risco de ocorrência de DTA, através do incentivo à adopção de boas práticas e eventual mudança de atitudes e comportamentos que visem a segurança e higiene alimentar, por forma a garantir a salubridade dos alimentos manipulados.

No decurso da formação e concluída a fase de abordagem dos conteúdos programáticos inerentes à formação deverão ser periodicamente efectuadas avaliações da eficácia dos programas de formação, bem como ser efectuada uma verificação e supervisão que permitam averiguar se os procedimentos transmitidos estão na prática a ser eficazmente executados. Devendo-se também regularmente proceder-se à revisão e actualização dos programas de formação (Baptista & Saraiva, 2003).

1.1.6 Controlo da Água de Abastecimento

As boas práticas de fabricação incluem a qualidade da água utilizada, visto que esta pode ser um veículo de transmissão de contaminantes químicos (entre outros pesticidas, detergentes, nitratos ou chumbo) ou agentes biológicos (entre os quais bactérias, vírus, protozoários ou helmintos) que quando presentes na água ingerida podem afectar a saúde humana.

As doenças de transmissão hídrica advêm de microrganismos patogénicos notoriamente do aparelho intestinal, em geral provenientes dos excretas de pessoas ou animais infectados, estando associadas a patologias tais como a cólera, febre tifóide e paratifóide, hepatite ou gastroenterites.

O DL 306/2007 de 27 de Agosto que estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano tem por objectivo “...proteger a saúde humana dos efeitos nocivos resultantes da eventual contaminação da água e assegurar a disponibilização tendencialmente universal de água salubre, limpa e desejavelmente equilibrada na sua composição.”

Nesse sentido, os locais de manuseamento e processamento de alimentos devem possuir um abastecimento de água potável, onde sejam respeitados os valores legalmente estabelecidos para os parâmetros químicos e microbiológicos, de forma a garantir que a sua utilização não provoque, por esta via, a contaminação dos géneros alimentícios ou utensílios e equipamentos que com eles contactam. Caso sejam utilizados reservatórios de água, estes deverão ser protegidos e limpos periodicamente através do estabelecimento de um plano de higienização que abranja estas estruturas, devendo caso necessário ser adoptados tratamentos necessários para assegurar a sua potabilidade.

Também a utilização de água para produção de gelo ou vapor deverá reunir condições de potabilidade, de modo a que quando entre em contacto com os alimentos não acarrete risco de para a saúde.

1.1.7 Controlo de Pragas

As pragas constituem um factor de risco para a segurança alimentar, dado que espécies como roedores, baratas entre outros insectos podem ser vectores mecânicos de microrganismos prejudiciais à saúde e que poderão por em causa a inocuidade dos alimentos com os quais entrem em contacto.

O controlo de infestações por pragas assenta na criação de um ambiente desfavorável ao seu desenvolvimento (Sprenger, 2008), nomeadamente através da adopção das seguintes medidas preventivas:

- Existência de um sistema de saneamento adequado e com as condutas de escoamento protegidas;
- Manutenção de um bom estado de higiene e limpeza das instalações e equipamentos;
- Boas condições de armazenamento e remoção dos resíduos produzidos;
- Inspeção das matérias-primas adquiridas;
- Utilização de dispositivos de prevenção de acesso (redes mosquiteiras, sistema de eliminação de insectos, pontos de engodo, cortinas de ar,...);
- Realização de um programa de desinfestações periódicas às instalações;

- Monitorização regular do estabelecimento e área envolvente para avaliação de potencial infestação.

O controlo e erradicação de pragas deverão ser efectuados de uma forma segura, pelo que a utilização de biocidas químicos, físicos ou biológicos não deverá acarretar qualquer prejuízo para a segurança ou adequação dos alimentos e consequentemente para a saúde humana.

1.1.8 Limpeza e Desinfecção

A presença de resíduos alimentares, sujidade e humidade em superfícies de trabalho, equipamentos, instalações ou utensílios potencia o crescimento da população microbiana e consequente contaminação dos alimentos, pelo que deverão ser garantidos procedimentos adequados de limpeza mediante a acção de lavagem e enxaguamento complementados, quando necessário, com um processo de desinfecção.

Os procedimentos de limpeza podem ser efectuados através da utilização separada ou combinada de métodos físicos e métodos químicos, cuja aplicação engloba em traços gerais as seguintes etapas (OMS/FAO, 2003):

- Remoção de resíduos das superfícies;
- Aplicação de uma solução detergente para soltar películas de microrganismos e sujidade, mantendo-as em solução ou suspensão;
- Enxaguamento com água potável para remover a sujidade e os resíduos de detergente;
- Limpeza a seco ou outros métodos apropriados;
- Desinfecção e subsequente lavagem com água potável, quando necessário.

Para ser garantido um bom estado de higiene devem ser desenvolvidos planos de limpeza e desinfecção levados a cabo de forma sistemática, de acordo com uma frequência estabelecida e que deverão ser continuamente monitorizados e estar devidamente documentados.

O plano de higienização constitui um documento elaborado por técnicos especializados, onde são indicadas as acções que devem ser tomadas com o intuito de executar uma correcta limpeza e desinfectação, dando assim resposta às seguintes questões (Pinto & Neves, 2010):

- O que higienizar?
- Como fazer?
- Quando fazer?
- Com que produtos e com que equipamentos?
- Que quantidade utilizar?
- Quais as medidas de segurança a aplicar?
- Quem é o responsável?

De acordo com o estabelecido no *Codex Alimentarius* um plano de higienização deve definir um conjunto de especificações, das quais destaca-se o seguinte:

- Ser assegurada a cobertura total das áreas, bem como todos os equipamentos e utensílios, incluindo os utilizados na própria limpeza;
- Descrição do modo de realização das actividades, nomeadamente no que respeita aos produtos químicos de limpeza e desinfectação a utilizar, a concentração das soluções, o modo de aplicação e a periodicidade;
- Fomentar uma utilização segura dos produtos químicos, particularmente no que diz respeito aos cuidados de saúde e de segurança na sua preparação, manuseamento e aplicação;
- Atribuição de responsabilidades pela realização de tarefas específicas;
- Estabelecimento de medidas de monitorização para avaliação da eficácia do plano de limpeza e desinfectação;
- Ser efectuado o registo das actividades realizadas.

Para além dos factores focados anteriormente deverão ainda ser tidos em consideração outros pré-requisitos previstos na legislação, que poderão exercer uma influência sobre a qualidade e segurança do processo de fornecimento de refeições, nomeadamente o controlo de fornecedores; segurança e manutenção dos equipamentos de produção; controlo de substâncias químicas; gestão de resíduos; manutenção da cadeia de frio; entre outros.

1.2 Consequências da Ausência da Qualidade Alimentar

O número e tipo de microrganismos presentes num produto alimentar sujeito a confecção está directamente relacionado com o seu meio de proveniência, a sua qualidade microbiológica original, as condições sanitárias sob as quais é manipulado ou processado e as condições de acabamento, armazenamento ou embalagem. Em relação às condições sanitárias, estas abrangem um vasto leque de condicionantes que vão desde a concepção e design das instalações, equipamento e utensílios; utilização de processos adequados de remoção da sujidade, lavagem e desinfecção; controlo da saúde dos manipuladores e observância de boas práticas de higiene pessoal e de confecção.

A flora microbiana de um produto alimentar é influenciada pela inter-relação de um conjunto de factores intrínsecos às características do próprio alimento, nomeadamente o pH, actividade da água, disponibilidade de oxigénio, capacidade de tamponagem, nutrientes disponíveis, substâncias naturalmente antimicrobianas, presença de flora microbiana natural e forma coloidal. As características do ambiente em que o alimento se encontra ou está armazenado, exercem também influência sobre a sua carga microbiana, salientando-se dentre estes parâmetros extrínsecos a temperatura, humidade relativa, composição atmosférica e embalagem (Forsythe, 2002).

Para se efectuar uma análise microbiológica e dado ser incomportável fazer a detecção de todos os microrganismos patogénicos e toxinas por eles produzidos e presentes nos alimentos, torna-se necessário a utilização de métodos de avaliação baseados na probabilidade de contaminação através da pesquisa de alguns grupos de microrganismos denominados como indicadores. A presença destes microrganismos permite avaliar a segurança e higiene alimentar, dando indicação de práticas menos correctas sob o ponto de vista higiénico e revelando condições processuais que impliquem riscos potenciais associados à possível presença de patogénicos.

A presença de microrganismos mesófilos (cuja temperatura óptima se situa entre os 20°C e os 45°C) em elevado número nos alimentos analisados, à excepção dos fermentados, poderá indiciar má qualidade das matérias-primas ou deficientes condições de processamento, transporte e conservação, sendo que a maior parte das bactérias

patogénicas presentes nos alimentos fazem parte deste grupo (I. Cruz, comunicação pessoal, n.d.).

O grupo de microrganismos indicadores de contaminação fecal inclui usualmente a pesquisa de coliformes, *Escherichia coli*, enterobactérias e estreptococos fecais, sendo o habitat de vários géneros deste grupo de microrganismos o tracto intestinal do homem e outros animais. A sua presença nos alimentos poderá indicar deficientes procedimentos de higiene, estando inerentemente associado um risco provável da presença de patogénicos (Forsythe, 2002).

A presença de *Staphylococcus aureus* para além do próprio risco toxinogénico, está normalmente associada a más práticas higiénicas, visto que o seu habitat é a pele e nasofaringe dos manipuladores, podendo ainda ter origem em equipamento e superfícies mal higienizado ou em matérias-primas, principalmente as de origem animal (Sousa, Franco, Rodrigues & Santos, 2001).

A *Salmonella* é a bactéria patogénica mais associada a casos declarados de toxinfecção alimentar, multiplicando-se activamente no tracto intestinal e provocando uma reacção tipo infeccioso, cujos sintomas incluem diarreia, náusea, dor abdominal, febre branda e calafrios e em algumas vezes vómitos, dor de cabeça e fraqueza. Todas as espécies deste género são potencialmente patogénicas para o homem, sendo que o número de células bacterianas necessário para provocar uma infecção clínica depende da virulência da estirpe, da idade e do estado geral de saúde dos consumidores (Jay, 2005). As salmoneloses são normalmente transmitidas pelos alimentos de origem animal, embora possam ser consequência de uma contaminação de pessoa a pessoa, nomeadamente nas creches. (I. Cruz, comunicação pessoal, n.d.).

As patologias de origem alimentar podem ainda ser veiculadas por outros patogénicos como é o caso de vírus, moluscos, protozoários, micotoxinas produzidas por fungos, ou menos comumente, entre outros, por priões (Forsythe, 2002).

Um estudo efectuado por estimativa nos Estados Unidos em 1990 aponta os agentes patogénicos *Campylobacter spp.*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus* causador de intoxicação alimentar, como uns dos principais microrganismos responsáveis

pela ocorrência de casos de doença de origem alimentar. Os dados estimam um total de cerca de 76 milhões de casos anuais, 323 mil hospitalizações e 5 mil mortes, sendo que destas 1.500 foram causadas por *Salmonella*, *Listeria* e *Toxoplasma* (citado em Forsythe, 2002).

Mais recentemente a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar e o Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças elaboraram um relatório sobre a ocorrência de zoonoses e surtos de origem alimentar em 2009, tendo por base dados apresentados por 24 estados membros da União Europeia e dois outros países não membros, nomeadamente Suíça e Noruega (EFSA, 2011). Segundo o mencionado nesse relatório a análise dos dados notificados permitiu verificar diferenças nos números e tipos de surtos notificados, bem como nos agentes causais, o que não traduz necessariamente os níveis de segurança alimentar entre estados membros, mas antes evidencia diferenças na eficiência e sensibilidade dos sistemas nacionais de identificação e investigação de surtos de origem alimentar.

O número total de notificações de surtos de origem alimentar entre 2007 e 2009 na União Europeia (UE) e em Portugal, excluindo os surtos transmitidos por via hídrica, encontram-se apresentados na tabela I.

Tabela I – Frequência de relatos de surtos de origem alimentar (excluindo os surtos verificados transmitidos pela água) na UE (EFSA, 2011)

	2009		2008		2007	
	Nº surtos declarados	Nº surtos verificados	Nº surtos declarados	Nº surtos verificados	Nº surtos declarados	Nº surtos verificados
UE	5.550	977	5.332	890	5.733	1.784
Portugal	11	11	35	11	-	-

De acordo com os dados da EFSA (2011) no ano de 2009 foram relatados pelos 24 estados membros um total de 5.550 surtos de origem alimentar (incluindo casos verificados e não verificados) tendo este resultado sido semelhante ao número de surtos notificados em 2008. Os casos ocorridos em 2009 afectaram cerca de 48.964 pessoas, tendo sido

decorridas 4.356 hospitalizações e originado 46 mortes. Destes casos mortais 16 foram associados com *Salmonella*, 15 com *Listeria monocytogenes*, três com toxinas de *Staphylococcus*, dois com toxinas de *Clostridium botulinum*, dois com *Clostridium spp.*, dois com vírus, um com *Campylobacter*, um com *Yersinia* e quatro mortes causados por agentes desconhecidos ou outros agentes causais. Ainda de acordo com os dados do relatório dentro da UE, o agente causal era conhecido em 72,9% dos surtos, estando os resultados revertidos na seguinte tabela:

Tabela II - Agentes causadores de todos os surtos de origem alimentar declarados na UE, 2009 (EFSA, 2011)

Agente Causal	Nº Surtos	% Surtos
<i>Salmonella</i>	1.722	31.0
Vírus	1.043	18.8
Toxinas Bacterianas	558	10.1
<i>Campylobacter</i>	333	6.0
Outros Agentes Causais	214	3.9
<i>Escherichia coli</i> ,	75	1.4
Parasitas	51	0.9
Outros Agentes Bacterianos	52	0.9
<i>Yersinia</i>	-	-
Desconhecido	1.502	27.1

Como indica a tabela II a *Salmonella* continua a ser o agente mais frequentemente associado aos surtos de origem alimentar relatados na UE, tendo sido responsável por 31,0% de todos os surtos notificados; seguindo-se os vírus e as toxinas bacterianas que representaram respectivamente 18,8% e 10,1% dos focos; em 27,1% dos surtos o agente causador era desconhecido (EFSA, 2011).

Em 2009, a maioria dos surtos verificados foram associados com alimentos de origem animal, sendo os ovos e seus produtos a categoria de alimentos mais comumente relatados como único veículo responsáveis por 17,3% dos casos. Misturas de refeições ou *buffet* representaram 8,1% dos surtos e a carne de porco e produtos derivados estavam associados a 7,8%, sendo que em 22,1% dos casos o alimento era desconhecido (EFSA, 2011). O mesmo documento refere que à parte das habitações, os locais mais comuns em

que foram verificados surtos com um elevado número de casos foram os restaurantes / cafés e estabelecimentos similares (17,5% dos casos), assim como escolas e jardins-de-infância (14,8% dos casos).

1.3 Requisitos Legais

Face à globalização do comércio de alimentos e ao risco de transmissão de patogénicos de origem alimentar através das fronteiras, em que os agentes infecciosos podem se disseminar a partir de um ponto original de produção até locais a milhares de quilómetros de distância, tornou-se necessário o estabelecimento de medidas de segurança alimentar elaboradas através de cooperações internacionais na determinação de padrões e regulamentos comuns.

Neste âmbito foi criada em 1962, através da Organização de Alimentos e Agricultura (*Food and Agricultural Organization*) e da Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*) uma comissão do *Codex Alimentarius*, do latim lei ou código de alimentos, com objectivo de compilar padrões para proteger o consumidor e assegurar práticas justas no comércio de alimentos através das fronteiras internacionais (Forsythe, 2002).

O *Codex* estabelece assim um código de práticas internacionais recomendadas, bem como princípios gerais de higiene alimentar a implementar ao longo de toda a cadeia alimentar no que diz respeito à produção de alimentos seguros e adequados ao consumo. Através deste documento é também recomendada a utilização de uma metodologia de cariz científico baseada na análise dos riscos alimentares prevista no sistema HACCP, por forma a melhorar a segurança alimentar.

Na UE esta metodologia foi adoptada oficialmente em 2002 com a publicação do Regulamento nº 178 do Parlamento Europeu e do Conselho a 28 de Janeiro, onde são determinados os princípios e normas gerais da legislação alimentar, é criada a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e são estabelecidos procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.

A necessidade de garantir a segurança dos géneros alimentares no decorrer na cadeia alimentar e o reforçar da responsabilidade dos diferentes operadores do sector alimentar,

são conceitos introduzidos pelo Parlamento Europeu e do Conselho através do Regulamento (CE) n.º 852/2004 de 29 de Abril de 2004, que estabelece a necessidade da aplicação geral de procedimentos baseados nos princípios HACCP comitadamente com a observância das boas práticas de higiene.

Ainda na vertente da segurança alimentar o Regulamento (CE) n.º 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de Outubro de 2004 visa garantir o funcionamento eficaz no que respeita à colocação no mercado comunitário de materiais e objectos destinados a entrar directa ou indirectamente em contacto com os alimentos, constituindo simultaneamente a base para garantir um elevado nível de protecção da saúde humana e dos interesses dos consumidores.

1.4 Sistema HACCP como uma Metodologia

O sistema HACCP assenta num princípio preventivo criado nos anos 60 por cientistas da *Pillsbury Company* em colaboração com a Agência Espacial Americana e com laboratórios do exército dos Estados Unidos, cujo objectivo era de garantir a qualidade, higiene e segurança das refeições fornecidas aos astronautas do programa Apollo. Actualmente a sua aplicação favorece as trocas comerciais pelo aumento de confiança dos consumidores, prevenindo a ocorrência de toxinfecções alimentares (Ferreira *et al.*, 2010).

Segundo Jay, Loessner e Golden (2005) “O HACCP é um método pró-activo e sistemático para controlar perigos nos alimentos, (...) enfatiza a qualidade de todos os ingredientes e de todas as etapas de processamento, estabelecendo como premissa que produtos seguros serão resultados de ingredientes e processos controlados.”

Pinto e Neves (2010) consideram que uma definição prática do sistema HACCP deverá colocar em destaque a abrangência de todo um leque de factores de risco ou perigos potenciais à segurança dos alimentos, o que inclui factores químicos, físicos e biológicos que poderão ocorrer de forma natural no alimento e no ambiente, ou que advenham de erros ocorridos durante o processo de fabrico.

Esta metodologia é recomendada por várias organizações e segundo (Pinto & Neves, 2010) apresenta vantagens em relação ao método tradicional que se focaliza na inspecção do produto final, salientando-se os seguintes aspectos:

- O controlo é proactivo, pelo que as acções correctivas podem ser tomadas antes que o problema ocorra;
- O controlo é efectuado por características facilmente monitorizadas como o tempo, temperatura e a aparência;
- O controlo abrange um curto período de tempo, pelo que as acções correctivas podem ser tomadas logo que seja considerado necessário;
- O controlo não é dispendioso comparativamente com métodos como as análises químicas e microbiológicas;
- O HACCP envolve todos os níveis profissionais na segurança do produto, incluindo o pessoal não técnico;
- Várias medidas podem ser tomadas para cada grupo de produtos porque o controlo é focalizado nos pontos críticos da operação;
- O HACCP pode ser usado para prognosticar um perigo potencial.

O âmbito da aplicação do sistema HACCP começa desde a produção primária e estende-se até ao consumidor final. De um modo geral a sua implementação consiste primeiro na inventariação dos riscos que poderão por em causa a saúde dos consumidores, seguindo-se o posterior estabelecimento de pontos críticos de controlo, onde através de monitorizações é verificado se o perigo em questão foi eliminado ou mantido a níveis de risco aceitáveis.

A implementação do HACCP rege-se por um protocolo sistemático para a segurança alimentar que consiste em sete princípios, enumerados no artigo 5º do Regulamento (CE) n.º 852/2004 e que estão representados na figura I.

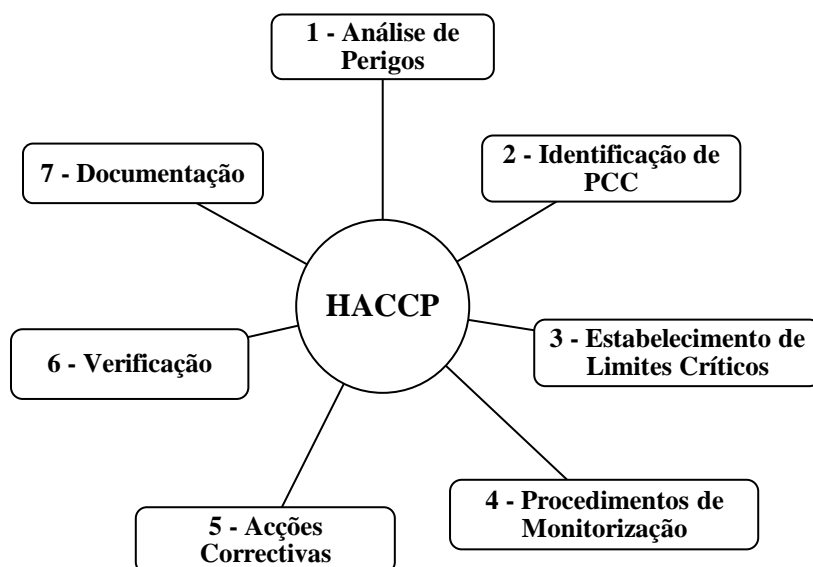


Figura I – Princípios do sistema HACCP

1. Efectuar uma análise de perigos que devam ser evitados, eliminados ou reduzidos para níveis aceitáveis e identificar as respectivas medidas preventivas;
2. Identificar os pontos críticos de controlo (PCCs) na fase ou fases em que o controlo é essencial para evitar ou eliminar um risco ou para o reduzir para níveis aceitáveis;
3. Estabelecer limites críticos para as medidas preventivas associadas a cada PCC, que separem a aceitabilidade da não aceitabilidade com vista à prevenção, eliminação ou redução dos riscos identificados;
4. Estabelecer e aplicar processos eficazes de vigilância (monitorização) dos PCCs e os procedimentos para utilização dos resultados da monitorização para ajustar o processo e manter o controlo;
5. Determinar acções correctivas para o caso do desvio dos limites críticos;
6. Estabelecer procedimentos de verificação para aferir se o sistema está a funcionar adequadamente;
7. Construir um sistema de registo e arquivo de dados que documentam estes princípios e a sua avaliação.

De acordo com o *Codex Alimentarius* o desenvolvimento de um plano HACCP envolve várias etapas que constituem uma sequência lógica de aplicação dos sete princípios base, nomeadamente:

- Constituir a Equipa do HACCP, que deverá ser multidisciplinar e formada por um elemento da gerência, um responsável pela implementação, um responsável comercial e um responsável pela produção, que em conjunto procedem à análise e coordenação das necessidades e resultados inerentes ao plano;
- Descrever o produto e método de distribuição, incluindo informações como composição, características físico-químicas, tratamentos aplicados, embalagem e método de distribuição;
- Identificar a utilização prevista associada ao consumidor final, podendo em determinados casos ser considerados grupos vulneráveis da população;
- Construir um diagrama de fluxo de modo a abordar todos os passos do processamento, podendo ainda ser incluída informação relacionada com os fornecedores, tipo de máquinas utilizadas, percurso das matérias -primas, intervalo de tempo entre a entrada e saída do produto, entre outros;
- Conferir no local o diagrama de fluxo no que diz respeito à verificação da sua efectiva correspondência ao processamento durante as várias etapas e horas de operação, devendo caso necessário ser efectuados reajustes;
- Listar todos os potenciais perigos associados a cada etapa, realizar uma análise de perigos e considerar as medidas preventivas para controlo de perigos identificados (Princípio 1);
- Determinar os pontos críticos de controlo através da utilização de árvores de decisão, onde a resposta a várias questões irão conduzir à decisão se o ponto é de facto um PCC (Princípio 2);
- Estabelecer limites críticos para cada PCC identificado, englobando parâmetros quantificáveis e que precisam de ser validados de modo a estabelecer a diferença entre alimentos seguros e não seguros (Princípio 3);
- Estabelecer um sistema de monitorização para cada PCC que poderá acontecer através da medição ou da observação esquematizada, devendo todos os dados resultantes ser registados e assinados pelo funcionário e por um responsável (Princípio 4);
- Estabelecer acções correctivas para o caso de ocorrerem desvios aos limites críticos estabelecidos, que deverão visar o controlo do PCC e a reciclagem ou destruição do produto afectado (Princípio 5);

- Estabelecer procedimentos de verificação do plano HACCP, com uma periodicidade adequada e fazendo uso de métodos, procedimentos e testes de verificação e auditoria incluindo amostragens e análises (Princípio 6);
- Estabelecer documentação e manter os registos no sentido de demonstrar a segurança da produção, bem como identificar quais as acções apropriadas a tomar na eventualidade de qualquer desvio dos limites críticos (Princípio 7).

A implementação deste sistema está associada ao cumprimento dos princípios gerais de higiene alimentar previstos no *Codex* que constituem os pré-requisitos do sistema HACCP. Estes pré-requisitos incluem uma variedade de actividades com impacto directo no próprio sistema e que abrangem todo o processamento do alimento antes que o plano HACCP seja iniciado, nomeadamente adequação de instalações, o controlo de fornecedores, a segurança e manutenção dos equipamentos de produção, a limpeza e higienização dos equipamentos e instalações, a higiene pessoal dos funcionários, o controlo de substâncias químicas, o controlo de pragas, entre outros, incluindo também as boas práticas de fabricação (Jay *et al.*, 2005).

2. Sistemas de Limpeza e Desinfecção: Higienização

2.1 Aspectos Gerais

O incumprimento de boas práticas de higiene pessoal e alimentar durante a manipulação de alimentos, assim como a observância de inadequadas condições do ambiente envolvente poderão constituir uma ameaça à saúde pública através da transmissão de microrganismos patogénicos por via alimentar, o que enfatiza a importância da higienização como garantia do bem-estar do consumidor (Pinto & Neves, 2010).

O processo de higienização em unidades de carácter alimentar envolve a aplicação de um conjunto de regras e procedimentos com o objectivo de garantir uma limpeza e desinfecção adequadas das instalações, equipamentos e utensílios, por forma a proteger a saúde humana de doenças transmitidas pelos alimentos.

Durante as etapas inerentes ao processo de fabrico de alimentos são produzidos resíduos resultantes quer destas actividades, quer de anomalias ocorridas durante o processo, o que

poderá contribuir para o desenvolvimento e crescimento de carga microbiana associada a situações de insalubridade. O objectivo principal de um processo de higienização é a remoção destes resíduos, sendo que de uma forma indirecta essa remoção torna-se o primeiro ponto crítico de eliminação e controlo de biofilmes.

O processo de higienização é levado a cabo no intuito da eliminação completa da sujidade, que por sua vez constitui um veículo de carga microbiana, podendo os resíduos alimentares serem constituídos à base de gorduras, proteínas, hidratos de carbono, sais minerais, óleos e lubrificantes ou ainda biofilmes (Schmidt, 2003).

Segundo refere Baptista (2003) “a sujidade é constituída geralmente por um aglomerado de partículas heterogéneas, tanto do ponto de vista da sua origem, natureza química, estrutura física e tamanho, que se encontram unidas entre si por uma substância normalmente designada por matriz.” A percepção do tipo de sujidade é relevante para a escolha quer do método como dos produtos de higienização que evidenciem uma maior eficácia no processo de remoção.

Para além da eliminação da contaminação microbiana, já anteriormente focada, a higienização das instalações, equipamentos, utensílios ou outras superfícies pretende também reduzir/eliminar a presença de perigos químicos ou físicos que em contacto com os alimentos apresentam risco de infecções, intoxicações ou mesmo ferimentos (Pinto & Neves, 2010).

Enquanto o conceito de limpeza se encontra associado à remoção dos vários tipos de sujidade presentes em determinada superfície, o conceito de desinfeção está por sua vez ligado à redução do número de microrganismos presentes para um nível que não comprometa a segurança do consumidor e a adequação dos alimentos.

Factores como o processo de fabrico, o tipo de produto, o tipo de superfícies ou o nível de higiene requerido são determinantes para avaliar a necessidade do processo de higienização abranger apenas uma limpeza, ou uma limpeza seguida de desinfeção (Noronha, n.d.).

Segundo Schmidt (2003) a limpeza engloba um conjunto de operações e produtos específicos, que quando usados nas condições recomendadas permitem eliminar a sujidade, sendo que esta só se revela eficaz quando acompanhada de um processo de desinfeção que permita eliminar ou reduzir para níveis seguros a flora microbiana presente.

Uma outra razão que justifica a inclusão da desinfeção no processo de higienização prende-se com o facto que apesar do processo de limpeza poder remover cerca de 90% ou mais de microrganismos presentes não os elimina, pelo que estes podem vir a depositar-se noutros locais e quando os factores tempo, água e nutrientes forem favoráveis poderá iniciar-se o processo de formação de um biofilme (Gibson, Taylor, Hall & Holah, 1999).

A obtenção de uma higienização eficaz depende de quatro factores complementares e interligados, cuja acção irá determinar a qualidade final da limpeza e desinfeção, sendo eles o factor químico inerente ao tipo, quantidade e correcta utilização do agente de limpeza ou desinfeção; o factor mecânico relacionado com o equipamento e o seu estado de conservação; o factor temperatura associado à temperatura da água utilizada e o factor tempo que se refere ao tempo de actuação dos produtos. Sempre que um destes factores não seja respeitado pode vir a provocar uma acção inversa ao objectivo proposto, nomeadamente um inadequado resultado no final do processo de higienização (Pinto & Neves, 2010).

De acordo com Houdt e Michiels (2010) dado a adesão microbiana a superfícies associadas ao processamento de alimentos ser um processo relativamente rápido, tornando-se assim essencial limpar e desinfectar com uma frequência necessária para evitar a sua fixação.

2.2 Aspectos Técnicos da Lavagem e Desinfeção

2.2.1 Método de Limpeza

A limpeza, tal como referido anteriormente, consiste essencialmente na eliminação de restos de matéria orgânica e outras partículas presentes em determinada superfície, através de uma acção física, química ou mecânica, sendo que a utilização de agentes químicos auxiliados conjuntamente pela acção mecânica é o procedimento mais frequente na indústria alimentar (Noronha, n.d.).

O processo implica em termos gerais o humedecimento da superfície e a penetração dos agentes de limpeza na própria sujidade, dependendo a efectividade do processo de factores como o tempo de contacto, temperatura e química da água, o que torna importante que sejam seguidas as orientações dos fabricantes dos agentes de limpeza, descritas nas fichas técnicas dos produtos. De uma forma mais específica o processo de limpeza é composto pelas etapas seguidamente identificadas na figura II.

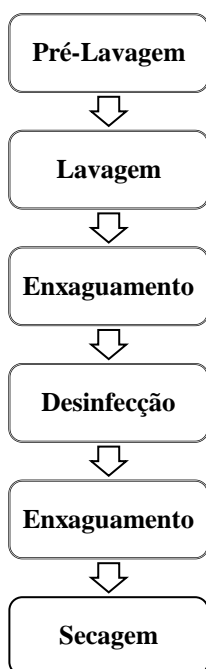


Figura II - Etapas constituintes do processo de higienização

De acordo com Noronha (n.d.) o processo de higienização deverá contemplar o seguinte:

- A fase inicial do processo consiste num primeiro enxaguamento, em que com a utilização de utensílios adequados se procede à remoção manual de partículas de sujidade e de alguns microrganismos que são arrastados conjuntamente com os resíduos;
- Em seguida procede-se à aplicação de solução detergente que, de acordo com o tempo de actuação necessário, irá actuar sobre as partículas de sujidade diminuindo a sua ligação às superfícies;

- Numa etapa posterior dá-se o enxaguamento para a eliminação da sujidade entretanto libertada, dos resíduos do detergente aplicado e ainda por arrastamento de alguns microrganismos;
- A desinfecção surge numa seguinte etapa em que se aplica o agente desinfectante para redução/eliminação de microrganismos para níveis seguros;
- Segue-se novamente o enxaguamento para remoção completa dos desinfectantes (etapa dispensável para alguns tipos de desinfectantes);
- Para finalizar realiza-se a secagem, cujo objectivo é a remoção da água em excesso, dado que a humidade residual poderá favorecer o crescimento de microrganismos.

A higienização pode ser realizada através da utilização de produtos químicos de limpeza que suspendem e dissolvem os resíduos alimentares diminuindo a tensão superficial, emulsionando gorduras e peptizando proteínas. A remoção de biofilme também pode ser significativamente facilitada através da combinação de produtos químicos com forças mecânicas como a utilização da pressão da água ou escovagem directa na superfície durante a limpeza (Chmielewski & Frank, 2003).

2.2.1.1 Agentes de Limpeza Químicos

Segundo Noronha (n.d.) a actuação dos detergentes resume-se à modificação da capacidade de penetração e remoção da sujidade através da água, sendo essa remoção conseguida através da degradação de gorduras, de proteínas e da dissolução de sais minerais. O facto dos resíduos serem normalmente constituídos por misturas complexas, implica que os detergentes resultem de misturas de vários agentes de limpeza, nomeadamente uma gama alargada de componentes alcalinos inorgânicos, ácidos orgânicos e alguns aditivos, sendo habitualmente os agentes de limpeza classificados em ácidos, neutros, alcalinos e enzimáticos.

Os agentes de limpeza ácidos incluem ácidos orgânicos e inorgânicos e exercem a sua acção através da remoção de sujidade seca ou incrustada, são frequentemente usados em conjunto com detergentes alcalinos de forma a dissolver depósitos de minerais normalmente formados pelos agentes de limpeza alcalinos e que se depositam nas superfícies (Schmidt, 2003).

Os agentes moderadamente ácidos normalmente utilizados podem pertencer ao grupo dos orgânicos como o ácido cítrico, tartárico, sulfâmico, entre outros, que dadas as suas características são adequados para limpezas manuais e conseguem amaciar a água, não corroendo superfícies, nem irritando a pele, sendo inclusive facilmente removidos com água. Enquanto os agentes fortemente ácidos são eficazes na sua actuação, mas podem ser bastante corrosivos para as superfícies e irritantes para a pele e mucosas, sendo mais frequentemente usados em situações específicas do que para um uso generalizado. Neste grupo encontram-se ácidos como o clorídrico, o nítrico, o sulfúrico e o fórmico que removem minerais e a matéria incrustada nas superfícies dos equipamentos, mas dada a perigosidade associada, a sua utilização deverá ser efectuada por pessoal especializado e de acordo com medidas de segurança adequadas (Baptista, 2003).

As soluções de limpeza alcalinas apresentam um valor de pH que se situa entre 7 e 14, actuam sobretudo em resíduos orgânicos, nomeadamente gorduras animais ou vegetais e decompõem e desnaturalizam proteínas como as do sangue ou do leite. Existem vários tipos de agentes alcalinos, nomeadamente a soda cáustica (hidróxido de sódio), o amoníaco e o hipoclorito de sódio, sendo que os detergentes alcalinos usados na indústria alimentar para a limpeza de superfícies contêm uma quantidade variável de uma base forte, que ao se encontrar diluída apresentam características menos cáusticas o que representa um menor risco na sua utilização. Na sua constituição também estão incluídos outros ingredientes como tensoactivos e sequestrantes, o que melhora consideravelmente a sua actuação, visto que apresentam capacidade de formar compostos alcalino-terrosos que não se precipitam mas permanecem em suspensão (Baptista, 2003).

Os agentes alcalinos suaves como as soluções de bicarbonato de sódio são bastantes usados para a limpeza manual de áreas ligeiramente sujas e apesar de serem eficazes em água sem calcário não removem os resíduos minerais. Similarmente os agentes moderadamente alcalinos como o carbonato de sódio são frequentemente usados em limpeza manual e apesar de serem eficientes na remoção de gorduras, não o são na remoção de resíduos minerais. Por sua vez os agentes altamente alcalinos como o hidróxido de sódio ou silicatos são extremamente corrosivos para muitos materiais, sendo que nas concentrações em que são usados poderão, quando em contacto com a pele, provocar queimaduras muito graves, o que torna imprescindível a adopção de medidas de protecção individual durante a sua aplicação (Noronha, n.d.).

As soluções de limpeza neutra são normalmente detergentes de uso geral incluindo muitos produtos de limpeza de uso doméstico ou outros concebidos para um contacto frequente com as mãos, actuando de uma forma combinada entre as suas propriedades tensioactivas e a acção mecânica de esfregar. Dadas as suas suaves características são considerados de uso seguro, no entanto só são eficazes quando aplicados em superfícies pouco sujas ou quando há tempo suficiente para que ocorra o contacto e a acção mecânica adequados (Baptista, 2003).

A limpeza enzimática é usada em alternativa a situações em que o excesso de alcalinidade ou acidez seja um problema, actuando as enzimas de uma forma específica sobre sujidade constituída por gorduras, proteínas e hidratos de carbono, pelo que a sua utilização deverá ter em conta as características da sujidade que se pretende remover (Baptista, 2003). No entanto Meyer (2003) refere que dada a especificidade do seu modo de acção torna-se difícil encontrar enzimas que sejam efectivas contra todos os diferentes tipos de biofilmes, fazendo com que seja necessário encontrar fórmulas que contenham vários tipos de enzimas, sendo útil a incorporação de proteases e das responsáveis pela hidrólise de polissacarídeos.

2.2.1.2 Selecção do Agente de Limpeza

O detergente ideal é que desempenha com eficácia a sua acção de limpeza na remoção dos resíduos e sujidades deverá possuir solubilidade elevada e completa; não ser corrosivo nem tóxico; encerrar a capacidade de amolecer a água, ser humidificante e penetrante, emulsionante e dissolvente; actuar como dispersante; ser estável durante o armazenamento e amigo do ambiente (Pinto & Neves, 2010).

De acordo com Baptista (2003) são vários os aspectos que deverão ser tidos em consideração na escolha do tipo de detergente que deverá ser utilizado para determinada tarefa de limpeza, salientando-se os seguintes:

- A autorização da utilização do produto para o uso pretendido;
- O tipo de contaminação/sujidade presente na superfície;
- O tempo disponível para as operações de limpeza;
- A dureza da água utilizada nas operações de limpeza;

- A natureza das superfícies a limpar;
- Os meios disponíveis para o enxaguamento das superfícies;
- O equipamento utilizado nas operações de limpeza;
- As práticas utilizadas nas operações de limpeza e a experiência e formação dos operadores nelas envolvidas;
- A acessibilidade das áreas e das superfícies para a realização das operações de limpeza.

Quando em contacto com os diferentes materiais em que actuam, os detergentes possuem de acordo com a sua natureza, determinadas características que podem alterar as propriedades desses materiais, conduzindo à perda de algumas delas. Assim a escolha do tipo de agente químico de limpeza a utilizar deverá ter em conta as características pretendidas, nomeadamente se são desengordurantes, agressivos, abrasivos, oxidantes, acidificantes, neutralizantes, corrosivos, desinfectantes, secantes, abrillantadores, odoríficos ou desencrustantes (Pinto & Neves, 2010). Segundo Houdt e Michiels (2010) a maioria dos agentes químicos de limpeza utilizados na indústria alimentar são compostos alcalinos que agem como detergentes para gorduras e proteínas, podendo ser usados em combinação com sequestrantes ou quelantes e agentes aniónicos humidificantes.

Na escolha do detergente deverão ainda ser considerados aspectos relativos á sujidade nomeadamente o tipo, quantidade e características ao nível da solubilidade, sendo que na generalidade uma sujidade inorgânica requer um detergente ácido, enquanto as sujidades orgânicas são melhor removidas por detergentes alcalinos (Noronha, n.d.).

Para a remoção de sujidades como o azeite ou gorduras minerais são utilizados detergentes com teores de dissolventes orgânicos por forma a aumentar a dissolução desses resíduos, enquanto noutros casos de limpeza química verificam-se reacções tipo ácido-base entre o detergente e o resíduo, como é o caso da reacção dos ácidos com os resíduos minerais (Pinto & Neves, 2010).

Em geral as sujidades orgânicas como a gordura animal, óleos vegetais, amido, açúcar e proteínas do leite, ovos, carne ou sangue são mais facilmente removidas através da utilização de detergentes neutros ou alcalinos (Sprenger, 2008). Relativamente às sujidades de natureza inorgânica como sais associados à dureza da água, ferrugem, sais de cálcio,

entre outros, requerem a acção de um detergente com características ácidas. Estes produtos são ocasionalmente utilizados para determinadas operações pontuais como limpar superfícies sujas com minerais precipitados ou com um alto teor de resíduos. Também sequestrantes como derivados de fosfato de sódio são muitas vezes necessários para quelar minerais associados à dureza da água (Houdt & Michiels, 2010).

Os métodos de limpeza utilizados nas indústrias alimentares só são adequados na remoção da matriz exopolissacarídica (EPS) de biofilme quando determinados parâmetros inerentes ao processo são aplicados correctamente, nomeadamente, fórmulas químicas, concentrações, tempo de contacto, temperatura e energia cinética, cuja acção influencia directamente o resultado final (Houdt & Michiels, 2010).

A química da água é também um factor importante a considerar uma vez que ao ser utilizada como solvente dos produtos de limpeza, removendo as sujidades através da sua acção mecânica poderá também tornar-se um factor decisivo na eficácia dessas operações. Assim os iões de cálcio e magnésio característicos das águas duras, são susceptíveis de formar incrustações em condições alcalinas, favorecendo a corrosão (Pinto & Neves, 2010).

Um outro aspecto a ter em conta é que os produtos de limpeza devem ser utilizados de acordo com orientações específicas, pois muitos componentes são incompatíveis ou mais eficazes se aplicados em separado.

A selecção final do detergente depende da consideração de todos os factores acima referidos e deverá apoiar-se nas recomendações das fichas técnicas que acompanham o produto e orientações do fornecedor. Em função de se tratar de produtos químicos, a manipulação deverá ser feita salvaguardando as necessárias condições de segurança, dando particular atenção ao facto que a mistura de vários produtos poderá resultar em libertação de líquidos ou produção de vapores prejudiciais à saúde dos utilizadores.

2.2.2 Método de Desinfecção

O processo de desinfecção implica a aplicação de um agente desinfectante que assegure a eliminação ou redução para níveis seguros, do número de microrganismos não removidos

pela pré-lavagem ou pela aplicação de detergentes, de modo a prevenir o seu crescimento durante a subsequente etapa de produção (Pinto & Neves, 2010).

Sendo o poder dos desinfectantes menos eficaz quando se encontram partículas de alimentos ou outros resíduos nas superfícies ou utensílios (Holah & Thorpe, 1990), torna-se essencial que a maioria dos esquemas de limpeza incluam a remoção da sujidade com água, seguida da aplicação de agentes químicos, lavagem e posterior desinfecção.

Gibson *et al.* (1999) forneceram evidências que salientam o poder dos tratamentos químicos e mecânicos na destruição de biofilmes, sendo que um procedimento de limpeza eficaz deve destruir a camada EPS da matriz associada ao biofilme, de modo a que os agentes de desinfecção possam ter acesso às células viáveis.

Para Zottola e Sasahara (1994), torna-se importante para a indústria de processamento de alimentos a utilização de métodos adequados que visem a remoção de resíduos depositados sobre as superfícies em contacto com alimentos, bem como a remoção da matriz de um biofilme existente, pois uma remoção incompleta facilita a reinserção de bactérias para a superfície e formação de um novo biofilme, mesmo que as bactérias do anterior tenham sido mortas.

O processo de desinfecção pode ser alcançado mediante a aplicação de métodos físicos através da acção do calor, radiação ou com recurso a agentes químicos.

2.2.2.1 Métodos Físicos

A actuação do calor sobre os microrganismos é o método físico mais antigo e com comprovada efectividade prática, sendo que outros métodos têm ainda sido utilizados para potenciar a acção dos biocidas contra a formação de biofilmes. De acordo com Pinto e Neves (2010) a água quente é por inerência aos baixos custos associados, o método mais utilizado e consiste na submersão de todos os utensílios que necessitem de desinfecção durante pelo menos três minutos a temperaturas a rondar os 80°C. Um outro método utilizado é o vapor, em que uma máquina que produz vapor o expele através de uma agulheta, permitindo alcançar superfícies de difícil acesso.

A desinfecção por intermédio do calor através de água quente ou vapor apresenta como vantagens o facto de não ser corrosivo e de destruir a quase totalidade dos microrganismos, no entanto, pode não ser recomendada a sua utilização em superfícies sensíveis ao calor. Este tipo de desinfecção é eficaz sempre que seja assegurada uma temperatura adequada que abranja toda a superfície a desinfetar e durante o tempo necessário para a destruição dos microrganismos (Noronha, n.d.).

Outros elementos físicos como radiação têm vindo a ser utilizados como desinfectantes, sendo este processo mais frequentemente usado em hospitais e laboratórios do que na indústria alimentar, uma vez que tanto os restos de alimentos como outras sujidades absorvem a radiação podendo constituir um efeito protector sobre os microrganismos. No entanto, este tipo de tratamento físico tem sido estudado como alternativa para o uso de desinfectantes químicos, em particular para a desinfecção de superfícies (Houdt & Michiels, 2010). Um estudo efectuado por Niemira e Solomon (2005) mostrou que a radiação ionizante foi tão ou mais eficaz contra células de *Salmonella spp.* de um biofilme do que em relação a células em suspensão, podendo o seu uso ser equacionado como tratamento de higienização numa variedade de alimentos e superfícies de contacto.

Oulahal-Lagsir, Martial-Gros, Bonneau e Blum (2003) usaram uma combinação de tratamento por ultra-som e preparações enzimáticas para remoção biofilmes de *E. coli* em aço inoxidável, considerando que o ultra-som pode também ser usado para aumentar a eficácia de biocidas como o ozono (citado em Houdt & Michiels, 2010).

Uma outra técnica utilizada para melhorar a actuação de biocidas é o uso de campos eléctricos, baseando-se numa melhor penetração do composto activo através do biofilme e reduzindo deste modo as concentrações necessárias para erradicar a bactéria do biofilme para níveis muito próximos aos eficazes aos usados contra as bactérias que se encontram em suspensão (Costerton, Ellis, Lam, Johnson & Khoury, 1994).

2.2.2.2 Métodos Químicos

A desinfecção efectuada a partir do uso de produtos químicos é a que ocorre com mais frequência na indústria alimentar, existindo uma grande variedade de desinfectantes que se encontram agrupados consoante o seu modo de acção.

Os vários tipos de desinfectantes disponíveis no mercado subdividem-se consoante o tipo de microrganismos que eliminam, nomeadamente os desinfectantes anti-fúngicos que eliminam bolores e os desinfectantes bactericidas que eliminam bactérias, podendo estes se apresentarem sob a forma líquida como é o caso dos álcoois, sob a forma sólida como por exemplo as pastilhas de cloro ou sob a forma gasosa como é o caso do gás de cloro (Noronha, n.d.). Os principais tipos de desinfectantes utilizados na indústria de alimentos são os compostos halogenados, agentes oxidantes, tensoactivos e álcoois, entre outros, sendo que da grande variedade de desinfectantes existentes no mercado os mais usados são o cloro e compostos à base de cloro, os compostos de iodo e os compostos de amónio quaternário.

Os compostos à base de cloro são bons anti-bacterianos para a maior parte dos microrganismos e são muito utilizados dado o seu baixo custo, apresentando também a vantagem da sua actuação não ser afectada pela dureza da água. Dentro dos compostos de cloro o hipoclorito de sódio é o mais utilizado, consistindo a sua actuação na oxidação de proteínas, que são uma parte essencial na estrutura dos microrganismos, apresentam, no entanto, um odor pungente e em soluções muito concentradas podem ser agressivos para o homem e corrosivos especialmente para as ligas de alumínio, bem como podem mostrar-se ineficientes na presença de alguns produtos orgânicos. As vantagens superam as desvantagens desde que sejam utilizados em superfícies limpas, com um tempo de contacto adequado, os resíduos enxaguados e sejam tomadas as precauções apropriadas durante o manuseio (Sprenger, 2008).

Segundo Houdt e Michiels (2010) os agentes de limpeza que contêm peróxidos, cloraminas ou hipocloritos são normalmente utilizados como desinfectantes das superfícies de contacto com alimentos. Dentro destes o cloro é o composto geralmente mais utilizado devido ao seu poder de oxidação e de desinfecção, sendo os compostos à base de cloro fáceis de preparar e aplicar, bem como os mais rentáveis em termos custo-eficiência. No entanto, o hipoclorito poderá ser particularmente agressivo para as superfícies constituídas por aços inoxidáveis, sendo que a libertação de cloro livre pode causar corrosão da camada superficial do óxido e conseqüentemente originar a formação de rupturas nessas superfícies, facilitando a adesão bacteriana e conseqüente formação de biofilme. A presença de matéria orgânica sob forma de sujidade ou biofilmes pode inactivar o cloro, comprometendo deste modo a sua actuação (Chmielewski & Frank, 2003).

Os compostos de amónio quaternário apresentam uma boa capacidade de higienização com uma baixa actividade corrosiva, são estáveis e não tóxicos, possuem propriedades inerentes a detergentes e apresentam pouco odor, sendo no entanto, mais difíceis de ser removidos das superfícies pelo que é importante enxaguar cuidadosamente com água limpa após a sua utilização. Podem ainda ser desactivados pela dureza da água, matéria orgânica e alguns plásticos, apresentando uma estreita faixa de actividade e não sendo tão efectivos contra as bactérias Gram negativas (Sprenger, 2008).

Estes compostos são muitas vezes usados em superfícies como tubos, paredes e tectos, apresentando uma aplicação sob forma de espuma que proporciona maior tempo de contacto em relação a uma aplicação através da passagem de água. A utilização de amónio quaternário é frequentemente recomendada para pavimentos, paredes e recipientes de armazenamento, superfícies que possam ser higienizados com longos tempos de contacto e para superfícies que não necessitem de lavagem como superfícies de contacto não alimentares (Giese, 1991).

De acordo com Noronha (n.d.) os iodóforos consistem em iodo e surfactante não-iónico em meio ácido, apresentando ambas as características de detergente e desinfectante e eliminam um amplo espectro de bactérias. Apresentam ainda outras vantagens como ser estáveis e de baixa toxicidade, quando adequadamente utilizados quase não apresentam odor, necessitam de pouco tempo de contacto com as superfícies, têm tolerância à água dura e são efectivos a baixas temperaturas. No entanto são inactivados na presença de resíduos alimentares e sujidades e como podem ser corrosivos, posteriormente à sua utilização deve ser realizado um enxaguamento abundante com água limpa. A sua cor amarela-acastanhada é observada quando o iodo activo se mantém presente, sendo a perda de cor um indicador da inactividade do composto. Devido às propriedades ácidas não devem ser utilizados em alumínio ou cobre e o contacto com os plásticos pode manchá-los (Sprenger, 2008).

Os desinfectantes com acção oxidante incluem o peróxido de hidrogénio e o ácido peracético, sendo o peróxido de hidrogénio um desinfectante de amplo espectro, tanto bactericida como activo contra endosporos de bactérias. O ácido peracético é um biocida mais potente do que o peróxido de hidrogénio e frequentemente mais eficaz do que o cloro, uma vez que mantém actividade apesar da carga orgânica presente (McDonnell & Russell, 1999). Este ácido é muitas vezes utilizado para a desinfeção a frio devido a sua

efectividade a baixas temperaturas, e apresenta vantagem quando usado em biofilmes que contenham resíduos de alimentos (Chmielewski & Frank, 2003). No entanto, uma vez diluído apresenta um curto espaço de utilização e o seu uso apenas é adequado para superfícies de vidro ou ácido inoxidável (Sprenger, 2008).

Os álcoois de cadeia curta como o etanol e propanóis são frequentemente utilizados como desinfectantes e anti-sépticos devido à rapidez de actuação, largo espectro de actividade e características físico-químicas como a boa solubilidade na água e nos lípidos, estabilidade, odor reduzido, baixa toxicidade e compatibilidade com a pele e superfícies. São frequentemente utilizados como desinfectantes em diferentes formulações e concentrações, dada a sua rápida actividade microbica associada à coagulação de proteínas e destruição das membranas celulares através da solubilização de lípidos. Mas apesar de serem agentes antimicrobianos contra células vegetativas não são activos contra esporos bacterianos, inibindo, no entanto, a germinação dos esporos (Ferreira *et al.*, 2010). O seu uso na indústria alimentar prende-se essencialmente na desinfeção das mãos dos manipuladores de alimentos através da sua acção anti-séptica.

As fortes propriedades oxidantes do ozono e o fato de ser eficaz ao longo de um alargado espectro de microrganismos têm aumentado o interesse da indústria alimentar, podendo este ser usado como um desinfectante tanto para bactérias em suspensão como nas do biofilme. No entanto, para comprovar que o ozono é um desinfectante eficiente, mais informações precisam ser estudadas acerca da sua eficácia sobre patógenos alimentares aderente a diferentes materiais de superfícies, bem como sobre os efeitos dos parâmetros inerentes ao processo, nomeadamente, temperatura, pH e tempo de contacto (Houdt & Michiels, 2010).

Para além dos métodos de desinfeção química já abordados, podem ainda ser encontrados disponíveis no mercado outros compostos como os anfotéricos, biguanidinas poliméricas, aldeídos, isotiazolinonas, fenóis, entre outros, cuja aplicação está normalmente associada a um determinado uso mais específico.

2.2.2.3 Eficácia da Desinfecção

Estudos apontam para uma menor eficácia antimicrobiana de vários agentes de limpeza aquosos sobre o biofilme em relação com *Salmonella spp* em suspensão. Nove desinfectantes comumente utilizados na indústria alimentar e eficientes contra as células de *Salmonella* em suspensão, revelaram um efeito bactericida consideravelmente inferior para o caso de células de biofilme, sendo mais eficazes os produtos contendo etanol a 70% (Moretro *et al.*, 2009).

A eficácia do desinfectante está relacionada com inúmeros factores, nomeadamente a natureza da superfície de fixação, a temperatura de exposição, o tempo de actuação, a concentração utilizada, o pH e a resistência bacteriana (Houdt & Michiels, 2010)

De acordo com Baptista (2003) são seis os principais factores que determinam a eficácia dos agentes desinfectantes, nomeadamente:

- O tempo de contacto, que é um parâmetro característico dos diferentes desinfectantes, sendo o grau de contaminação directamente proporcional ao tempo necessário para a desinfecção;
- A temperatura, que de uma forma geral optimiza a acção dos desinfectantes quando se encontra acima da temperatura ambiente, sendo porém o aumento da temperatura limitado pela volatilidade associada aos desinfectantes;
- A concentração dos produtos químicos, que na maior parte das aplicações é proporcional à rapidez da sua actuação;
- O pH associado a cada desinfectante, dentro de uma gama de valores cuja acção se torna mais eficaz;
- Limpeza prévia, dado que presença de restos de alimentos diminui a eficácia dos desinfectantes dado possibilitar um efeito protector sobre os microrganismos, assim como poder ocasionar a neutralização do desinfectante;
- A dureza da água, que quando excessiva reduz a eficácia de alguns desinfectantes e contribui para a formação de incrustações.

Tabela III – Causas de higienização inadequada (adaptado de Noronha, n. d.)

Causa	Efeito	Deteção	Controlo
Tempo de contacto demasiado curto do desinfectante	Diminui a eficácia do desinfectante	Análise microbiológica das superfícies	Comprovar o procedimento
Água: T > 60°C	Coagulação de proteínas	Visual	Disponer de água à temperatura adequada, realizar lavagem com ácido
T < 60°C	Redução da eficácia de remoção da gordura	Visual	
Dura	Depósitos calcários	Visual	Usar água branda
Desinfectante demasiado diluído	Diminui a eficácia do desinfectante	Análise microbiológica das superfícies	Elaborar/aplicar instruções para a preparação de soluções
Desinfectante inadequado	Eficácia insuficiente do desinfectante	Análise microbiológica do equipamento	Seleccionar desinfectantes adequados
Longos intervalos entre limpezas	Acumulação de sujidade e dificuldade da sua eliminação	Visual Análise microbiológica	Intervalos mais curtos, intensificar a limpeza
Enxaguamento incorrecto	Sujidade residual	Visual Análise microbiológica	Enxaguar bem
Humidade residual	Multiplicação de microrganismos	Visual Análise microbiológica	Realizar secagem/assegurar drenagem

2.2.2.4 Escolha do Desinfectante

Uma vez que não existem desinfectantes universais torna-se necessário estabelecer alguns critérios na escolha e aplicação dos desinfectantes, tendo em consideração alguns factores importantes, que de acordo com Baptista (2003) incluem os seguintes aspectos:

- O tipo de superfície a ser desinfectada;
- O nível de contaminação/sujidade existente;
- O tempo disponível para a operação de desinfeção;
- O método de aplicação;
- As características da água de enxaguamento;

- A compatibilidade com os agentes de limpeza;
- O efeito de corrosão do produto;
- As propriedades em termos de absorção do produto;
- O tempo de reacção necessário;
- O tipo de microrganismos potencialmente presentes.

A selecção de um desinfectante deve basear-se, em termos gerais, na probabilidade ou não de um biofilme estar presente e da carga orgânica provavelmente associada (Chmielewsky & Frank, 2003). O facto de cada empresa conhecer qual a flora tipicamente associada permite que haja uma adequação entre o desinfectante seleccionado e o tipo de contaminação a destruir, ressaltando-se o facto que os microrganismos presentes nas superfícies podem apresentar maior ou menor resistência aos desinfectantes.

O conhecimento do grau de contaminação existente torna-se também um factor a considerar, uma vez que é directamente proporcional ao tempo necessário para que ocorra uma adequada desinfecção, assim quanto maior for a contaminação mais tempo será necessário para que esse procedimento seja eficaz (Noronha, n.d.).

Um bom agente desinfectante deve possuir determinadas características que conduzam a uma adequada prevenção e controlo da contaminação biológica nas instalações, equipamentos, utensílios e manipulações. Nesse âmbito deve ser letal para os microrganismos, estável, homogéneo, não tóxico, resistente à matéria orgânica, eficaz à temperatura ambiente, com capacidade de penetração, não corrosivo, seguro e de fácil aplicação (Baptista, 2003).

2.2.3 Qualidade da Água

A qualidade da água a utilizar no processo de higienização representa um factor preponderante, devendo respeitar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos de uma água própria para consumo, sendo pertinente conhecer algumas das suas características como a dureza, o pH e a presença de alguns iões, dado que estes parâmetros influenciam a eficiência de alguns produtos de higienização.

De acordo com Noronha (n.d.) a água utilizada na higienização deve ser própria para consumo, limpa e transparente, livre de microrganismos, não corrosiva e branda, sendo que uma água excessivamente dura contém excesso de sais inorgânicos como os cloretos de cálcio e de magnésio, sulfatos e bicarbonatos o que para além de favorecer a formação de incrustações nas superfícies, reduzindo também a eficácia de alguns detergentes e desinfectantes, pelo que o uso de águas brandas está particularmente indicado para as operações de limpeza química (Noronha, n.d.).

Chmielewski e Frank (2003) referem que relativamente à temperatura, os fabricantes recomendam que as soluções de detergente devem ser aplicadas numa gama de temperaturas entre 40° e 90° C, consoante o tipo de sujidade e o risco de contaminação. No entanto substratos ricos em hidratos de carbono e proteínas tendem a fixar-se nas superfícies, ao serem utilizadas soluções de limpeza a quente. Por outro lado se as soluções não são suficientemente quentes a sujidade pode depositar-se.

2.3 Procedimentos Manuais e Mecânicos de Higienização

As operações de limpeza resumem-se à reacção dos agentes activos das soluções com os constituintes da sujidade de modo a facilitar a sua eliminação e evitar que esta se volte a depositar noutros pontos no decurso da limpeza, permitindo assim eliminar os resíduos de alimentos das superfícies dos utensílios, bem como eliminar parte dos microrganismos que se encontram nesses resíduos (Baptista & Linhares, 2005).

Ao ser associado ao processo de limpeza o factor desinfecção será proporcionada a realização de uma higienização efectiva das superfícies que entram em contacto com os alimentos, através da remoção física da sujidade, bactérias e outros microrganismos, reduzindo as hipóteses de contaminação dos alimentos e evitando deste modo a transmissão de doenças para o consumidor.

No decorrer do ciclo de higienização de equipamentos e utensílios (figura III) a adopção de um protocolo adequado nas várias operações inerentes ao processo de higienização constitui um ponto fundamental, o que torna ainda a questão mais relevante quando se trata da higienização de superfícies, equipamentos e utensílios que contactem directamente com

os alimentos, sendo conveniente equacionar a utilização de meios manuais e/ou mecânicos de lavagem (Idaho Department of Health and Welfare [IDHW], 2009).

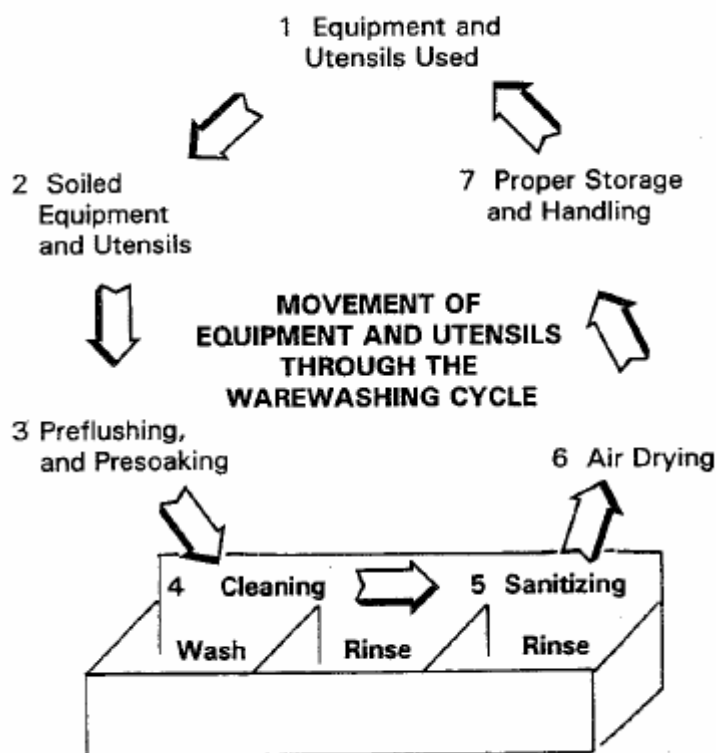


Figura III - Movimento dos equipamentos e utensílios durante o ciclo de higienização (adaptado de IDHW, 2009)

Em termos gerais o processo de lavagem manual engloba primeiramente os procedimentos de uma limpeza prévia para remoção das partículas de alimentos, uma lavagem com agente químico de limpeza com utilização de água quente e a posterior passagem por água limpa/desinfecção seguida de secagem. Este processo deve ser efectuado em local próprio e adequado e deverá ter as dimensões necessárias, tendo em conta o tamanho dos utensílios a higienizar, não devendo ser realizado em cubas de lavagem onde são preparados alimentos ou nos lavatórios destinados à higienização de mãos.

A limpeza manual pode ser realizada com recurso a utensílios e equipamentos como escovas, esponjas, raspadores, mecanismos abrasivos, mangueiras ou pistolas de água e através de métodos como a imersão, alta pressão, pistolas de vapor ou pulverização (Noronha, n.d.).

Relativamente à necessidade de serem preparadas soluções de lavagem e desinfecção, estas deverão ser efectuadas imediatamente antes da utilização, devendo ser seguidas as instruções técnicas do fabricante. As temperaturas recomendadas para a lavagem devem ser mantidas acima dos 43° C (IDHW, 2009), ou no caso da imersão em água quente ser usada como processo de desinfecção a temperatura da água não deverá se encontrar abaixo dos 77 ° C durante pelo menos 30 segundos (Schimdt, 2003).

A lavagem mecânica implica o recurso a um equipamento em que são controladas de uma forma automática determinadas especificações relativas ao seu funcionamento, nomeadamente, as temperaturas de lavagem, operações de enxaguamento e desinfecção, pressão, velocidade e tempo do ciclo de lavagem. Este equipamento deve vir equipado de fábrica, entre outros alarmes e especificações, com um dispositivo de medição que indique a temperatura da água, bem como com indicadores de avaria durante o ciclo de lavagem (*Virginia Department of Agriculture and Consumer Services [VDACS], 2010*).

De acordo com Pinto e Neves (2010) a temperatura de lavagem deverá ser cerca de 80°C no caso de não serem utilizados produtos químicos desinfectantes, quando a água é também usada para proceder à desinfecção dos utensílios a higienizar.

O uso recorrente deste tipo de equipamento requer em simultâneo uma manutenção e verificação periódica por forma a garantir a eficácia do processo de higienização, devendo ser efectuada uma monitorização regular nomeadamente a verificação dos filtros, temperatura, conservação e estado higiénico do equipamento e dos acessórios de lavagem, por forma a evitar uma possível recontaminação entre ciclos de lavagem.

Em termos comparativos dos resultados associados a estes dois processos de higienização, um estudo efectuada por Sigua *et al.* (2011) no âmbito do processo de higienização de utensílios de uso alimentar utilizados em restaurantes, permitiu verificar que a lavagem mecânica se revelou mais eficaz do que a lavagem manual, o que corrobora com um outro estudo prévio elaborado pelos autores Wernersson, Hakanson, Lindvall e Tragardh (2003) que concluíram que os sistemas de lavagem mecânicos controlam melhor o nível microbiológico de utensílios utilizados em estabelecimentos de serviços alimentares, do que o nível mais básico de lavagem manual.

Outros estudos apontam algumas causas para justificar essas diferenças como o desconforto que pode ser provocado nos funcionários ao realizarem uma lavagem manual com temperaturas superiores a 40°C, ao contrário da lavagem mecânica que normalmente usa temperaturas superiores e não se encontra limitada por essa condicionante humana (Pfund, 2004). Outros factores apontados para a variação da eficácia entre estes dois sistemas de lavagem são o número e tamanho dos utensílios que vão ser higienizados, a carga microbiana inicialmente presente, o tipo de sujidade aderida aos utensílios, bem como o tempo de duração do processo de higienização (Sigua *et al.*, 2011).

2.4 Avaliação da Eficácia da Higienização

Um plano de higienização deve englobar também um programa de avaliação que através de uma supervisão permita verificar a sua eficácia. Este tipo de monitorização possibilitará detectar más práticas de higiene na realização das operações de limpeza e desinfecção, assim como possíveis focos de contaminação microbiológica. Nesse sentido um programa de monitorização e verificação deverá incluir:

- Inspeção através de avaliação visual para averiguar se há sinais de sujidades;
- Análises microbiológicas de superfícies em contacto com os alimentos, de modo a permitir avaliar os níveis de contaminação microbiológica em superfícies e a eficiência da higienização.

De acordo com Noronha (n.d.) a eficácia da higienização envolve a avaliação do estado das superfícies, relativamente a um ou mais dos seguintes critérios: superfície livre de resíduos, superfície livre de químicos e superfície aceitável do ponto de vista microbiológico.

Um programa de controlo efectivo depende de um sistema adequado de detecção de biofilmes, dadas as vantagens e desvantagens associadas a cada uma das técnicas de monitorização, uma combinação bem-escolhida dos métodos de detecção irá proporcionar uma maior eficiência nesse processo. Os métodos normalmente utilizados para detectar e monitorizar a carga microbiana sobre superfícies e utensílios de processamento de alimentos incluem o esfregaço, placas de contacto e a determinação de ATP.

No método de esfregação são utilizadas zaragatoas em que a extremidade, normalmente constituída por algodão, é humedecida num tubo contendo uma solução de diluição estéril, sendo em seguida esfregada na superfície a analisar com o intuito de remover a microflora existente. Já em laboratório os tubos são agitados para que os microrganismos passem para o líquido, podendo-se de seguida utilizar uma grande variedade de meios de cultura selectivos para o grupo microrganismos que se pretenda investigar. Após incubação, as colónias são enumeradas e identificadas caso assim se desejar, sendo a principal vantagem deste método o facto de que com um meio selectivo uma bactéria específica, levedura ou fungo podem ser isolados e identificados. A principal desvantagem do método é o tempo necessário e o facto de os microrganismos poderem ser removidos selectivamente a partir da superfície (Chae & Schraft, 2001; Chmielewski & Frank, 2003).

A utilização de placas para contacto directo permite a recolha de amostras pressionando uma placa que contém um meio de cultura solidificado contra a superfície a analisar, de seguida fecham-se as placas, incubam-se e contam-se as colónias formadas. Este método é mais simples do que o esfregação, mas não é possível utilizá-lo para amostrar superfícies irregulares ou ásperas, que são precisamente os tipos de superfícies mais prováveis de abrigar os biofilmes. A limitação do método depende de quanta pressão é aplicada ao meio de cultura, o tempo de contacto, a presença de sujidade, e se se verifica a aderência à contaminação bacteriana (Chmielewski & Frank, 2003).

Os métodos microbiológicos anteriormente referidos são os normalmente utilizados para verificar as condições de higiene praticada, dado permitirem a obtenção de uma informação qualitativa e quantitativa sobre a carga microbiana presente nas superfícies, utensílios ou equipamentos. No entanto dado o período de incubação que requerem, tornam-se uma ferramenta útil, mas pouco rápida quando se pretende obter informação sobre o grau de higiene, num programa de monitorização.

O teste de bioluminescência da adenosina trifosfato (ATP) é um método bioquímico rápido para estimar o total de ATP recolhido por esfregação numa dada superfície, estando este valor relacionado com a matéria orgânica presente, incluindo microrganismos e resíduos de alimentos. A ATP presente nestas duas fontes irá ser convertida em luz através de um sistema enzimático, em que a luz emitida é quantificada através de um fotómetro, sendo a sua intensidade directamente proporcionalmente à quantidade de ATP presente (Noronha,

n.d.). A desvantagem deste teste é que não pode detectar baixos níveis de microrganismos, por exemplo, será necessário cerca de 10^3 bactérias ou 10 células de leveduras no esfregaço para o resultado ser positivo (citado em Chmielewski & Frank, 2003).

Segundo Chmielewski e Frank (2003), não existe um método prático para a determinação quantitativa de microrganismos de um biofilme no ambiente da indústria alimentar, dado que pode não se proceder um destacamento quantitativamente significativo da microflora que está firmemente aderente. No entanto, a técnica do esfregaço fornece informação útil sobre a extensão do crescimento microbiano numa superfície e sobre em que medida a limpeza tem ou não sido eficaz. O teste de bioluminescência ATP é um bom método de determinação da eficácia de limpeza, já que tanto os resíduos alimentares e microrganismos são detectados e como os resultados são obtidos em tempo real podem ser tomadas acções correctivas imediatas.

Ainda segundo estes autores a eficácia da remoção de biofilmes pode ser monitorizada usando a bioluminescência ATP para resultados rápidos ou procedimentos de contagem de placa para resultados sensíveis.

3. Biofilmes

3.1 Os Biofilmes e os Microrganismos

Os microrganismos são frequentemente associados a formas simples de vida, porém o estudo do seu desenvolvimento revela que são capazes de assumir formas complexas como é o caso dos biofilmes, sendo genericamente definidos como comunidades de microrganismos que se encontram aderidos a uma determinada superfície (O`Toole, Kaplan & Kolter, 2000). Para outros autores os biofilmes consistem principalmente em agregados de diferentes tipos de microrganismos (por exemplo bactérias, protozoários, fungos, microalgas, entre outros) que se ligam a superfícies bióticas ou abióticas consolidando o seu processo de adesão através do estabelecimento de complexas interacções metabólicas que dão origem a uma matriz EPS onde se mantêm encerrados, formando assim um microcosmo. A formação de biofilmes representa um modo de protecção das bactérias a ambientes hostis, de modo a preservarem o seu próprio

desenvolvimento e sobrevivência, estando a sua presença associada a graves infecções no Homem (Ferreira *et al.*, 2010).

Os primeiros registos acerca da descoberta dos biofilmes remontam a 1933 e são da autoria do microbiologista Arthur T. Henrici, sendo sua a constatação que “É evidente que a maior parte das bactérias do meio aquático não são organismos que flutuam isoladamente, mas que crescem sob superfícies submersas (...)” (citado em O’Toole *et al.*, 2000).

Num ambiente de processamento de alimentos a formação de um biofilme é um processo complexo que pode começar com a fixação de uma única bactéria numa determinada superfície, sendo que o tempo necessário para que este evento aconteça pode ser relativamente curto, dependendo do meio circundante, da superfície e da própria bactéria. Nos biofilmes podem estar presentes uma única ou várias espécies microbianas que se formam numa variedade de superfícies quer bióticas como abióticas. Enquanto as espécies mistas predominam na maioria dos ambientes, os biofilmes de uma única espécie estão associados, por exemplo, numa variedade de infecções e em superfícies de implantes médicos (O’Toole *et al.*, 2000).

Segundo Marques *et al.* (2007) as estirpes presentes nos biofilmes podem pertencer ao grupo dos patogénicos, como é o caso *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli O157: H7*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, como também, podem estar presentes microrganismos deterioração, nomeadamente *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Micrococcus spp* e *Enterococcus faecium*, entre outras espécies. A desagregação destes microrganismos das camadas do biofilme poderá originar contaminação e alteração da qualidade dos alimentos, tornando os produtos alimentares em potenciais veículos de organismos patogénicos.

Os utensílios utilizados para a alimentação são constituídos por materiais como o aço inoxidável, vidro, borracha ou polipropileno, podendo estas superfícies ser contaminadas por microrganismos que sob certas condições se depositam e aderem, dando início ao crescimento celular e conseqüente formação de biofilme (Marques *et al.*, 2007). Vários estudos efectuados em estabelecimentos do ramo alimentar, com o objectivo de avaliar a qualidade microbiológica de diferentes utensílios como tábuas de manipulação de alimentos, pratos, talheres, tabuleiros, entre outros, evidenciaram elevados níveis de

contaminação. Os resultados obtidos revelaram a presença de microrganismos indicadores como mesófilos aeróbios, coliformes, enterobactérias, bem como fungos e leveduras, concluindo-se a necessidade de reavaliar os métodos de higienização, efectuar formação de manipuladores e garantir um adequado acondicionamento dos utensílios após serem higienizados (Andrade *et al.*, 2003; Blume & Ribeiro, 2006; Pinheiro, Wada & Pereira, 2010).

3.2 Processo de Formação de um Biofilme

Segundo o constatado em estudos os biofilmes são considerados um ponto estável de um ciclo biológico que inclui as fases de adesão inicial, adesão irreversível, maturação, manutenção e dissociação. O início deste processo surge em resposta a determinadas condições ambientais, tais como a disponibilidade de alimento (O'Toole *et al.*, 2000).

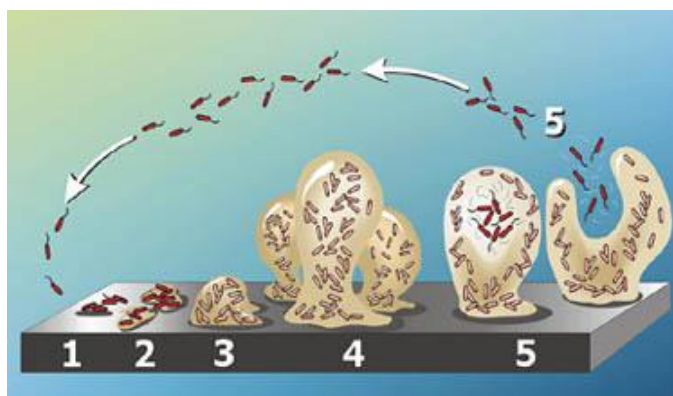


Figura IV – Etapas de desenvolvimento de um biofilme (1) adesão inicial (2) adesão irreversível (3) maturação I (4) maturação II (5) desagregação (*Center for Biofilm Engineering Montana State University, 2003*)

3.2.1 Fase da Adesão Inicial e Irreversível

Estudos utilizando *S. aureus*, *E. coli* e *S. epiderme* apontam que determinados estímulos externos como a densidade populacional, stress ou limitação de nutrientes influenciam o início do processo de formação de biofilme, dado ser em resposta a estes condicionantes que são activados os genes responsáveis pela expressão de proteínas de superfície, pela produção de EPS e pela adesão (citado em Chmielewski & Frank, 2003).

Segundo Mittelman (1998) a formação de um biofilme é também influenciada por outros factores como a composição do substrato, a química e topografia da superfície e a velocidade do fluxo de líquidos. Ao nível químico, as superfícies limpas submersas em solução são rapidamente alteradas pela adsorção de moléculas orgânicas e iões carregados, sendo este processo denominado de pré-condicionamento (Chmielewski & Frank, 2003). Vários estudos evidenciam que a fixação de bactérias ocorre melhor em superfícies onde se verifica a presença de iões. Smoot e Pierson (1998) observaram que foi numa solução de fortes forças iónicas que se estabeleceu uma maior adesão das bactérias ao aço inoxidável, enquanto uma menor adesão a esse material ocorreu sob condições alcalinas, o que indica uma repulsão electrostática entre a célula e a superfície de adesão.

McEldowney e Fletcher (1987) também apontaram que na presença de uma camada superficial de moléculas orgânicas é promovida a adesão das células bacterianas às superfícies, sendo que a adsorção máxima de moléculas orgânicas ocorre em superfícies com alta energia livre. Sugeriram ainda que a compatibilidade das macromoléculas do pré-condicionamento com as propriedades de superfície das bactérias irá influenciar o processo de adesão.

Ao nível físico, o desgaste ocorrido nas superfícies devido a um uso contínuo provoca o aumentar da sua capacidade de albergar bactérias e resíduos, tendo sido evidenciado por estudos realizados por e Holah e Thorne (1990) que os defeitos de superfície foram associados com um significativo aumento da adesão bacteriana. Em termos biológicos a sequência de fixação de múltiplas espécies, denominada sucessão de espécies, irá influenciar a adesão das espécies que compõem o biofilme resultante, sendo que a população inicial pode alterar a superfície de modo a que as seguintes espécies possam também associar-se. Em alguns casos a adesão de espécies secundárias pode aumentar a estabilidade da população do biofilme, tendo Hood e Zottola (1997) demonstrado que *L. monocytogenes* é mais propensa a aderir a aço inoxidável na presença de *Pseudomonas fragi*.

Uma abordagem inicial, seguida da ligação física são duas etapas que genericamente ocorrem no processo de adesão bacteriana com as superfícies de contacto. O processo de ligação é favorecido por determinadas características bacterianas como a hidrofobicidade de carga e os apêndices de superfície, sendo que as estruturas e compostos envolvidos na

ancoragem incluem flagelos, fímbrias, pilis, e polímeros polissacarídeos (Bower *et al.*, 1996). A adesão a um substrato pode ocorrer quer de uma forma passiva através da gravidade, difusão ou dinâmica de fluidos; quer de uma forma activa através da motilidade, em que as propriedades da superfície celular como flagelos, pilis, proteína de adesina, cápsula e carga de superfície, influenciam a anexação (Kumar & Anand, 1998).

De acordo com Bower *et al.* (1996) e do ponto de vista termodinâmico, a distâncias consideráveis como 50 nm a aproximação celular pode ser afectada por interacções hidrofóbicas e por forças de *Van der Waals*. No entanto quando a distância de separação entre a célula e a superfície decresce para valores inferiores a cerca de 20nm a repulsão e atracção electrostática potencia a força motriz para ocorrer a ligação.

O tempo associado ao processo de adesão encontra-se muitas vezes situado entre os 5 e os 30 segundos, começando esta inicialmente por ser reversível e à medida que a célula se aproxima da superfície ocorrem interacções específicas que podem colmatar a distância e levar a um processo de adesão irreversível (Mittelman, 1998).

De acordo com Chmielewski e Frank (2003) a fixação reversível corresponde a uma interacção inicial fraca entre as bactérias e o substrato através de forças de *Van der Waals*, electrostáticas e interacções hidrofóbicas, sendo as bactérias facilmente removidas através da aplicação de força de moderada intensidade. A fixação irreversível resulta da ancoragem dos apêndices ou da produção de polímeros extracelulares (Sutherland, 1983), sendo conseguida a remoção de células através da aplicação de uma força de forte intensidade como esfregar ou raspar; ou pela quebra química das forças de fixação por meio da aplicação de enzimas, detergentes, surfactantes, desinfectantes ou calor (Chmielewski & Frank, 2003).

Após o processo de fixação irreversível ter acontecido e caso existam adequadas condições de crescimento, surge a formação de microcolónias em resultado da agregação e crescimento de microrganismos e produção simultânea da matriz EPS, sendo que a agregação pode envolver o recrutamento de células existentes no meio circundante como resultado da comunicação célula a célula - *quorum sensing* (Chmielewski & Frank, 2003; McLean, Whiteley, Stickler & Fuqua, 1997).

A matriz EPS possui como constituintes polissacarídeos, proteínas, fosfolipídeos, ácidos nucléico e teicóico, bem como outras substâncias poliméricas hidratadas com 85 a 95% de água (Sutherland, 1983), sendo a sua principal função da EPS favorecer protecção para a comunidade que constitui o biofilme, através da concentração de nutrientes, dificultar o acesso de biocidas, efectuar o sequestro de metais e toxinas e evitar a dissecação (Carpentier & Cerf, 1993).

Segundo Bower *et al.* (1996) as bactérias adaptam-se à vida em biofilme, sendo que após a adesão são frequentemente associadas duas etapas, nomeadamente o aumento da síntese de EPS e o desenvolvimento de resistência aos antibióticos. Outras propriedades poderão ser potenciadas como o aumento da resistência à luz ultra violeta, o aumento das taxas de troca de material genético, alteração das capacidades biodegradativas e o aumento da produção de metabólitos secundários. Todas estas características parecem criar um ambiente de protecção podendo tornar os biofilmes num sério risco para a saúde.

Dados evidenciam uma maior resistência bacteriana a compostos tóxicos em células que colonizam superfícies como parte de um biofilme do que em células isoladas em suspensão, o que poderá estar atribuído à lenta difusão de biocidas através da matriz do biofilme. Enquanto um microrganismo livremente suspenso se encontra, por todos os lados e em todos os ângulos vulneráveis a um desinfectante, um microrganismo inserido numa comunidade aderida a uma superfície torna-se menos vulnerável (Bower *et al.*, 1996). No interior de um biofilme, as células bacterianas das camadas mais profundas devido à privação de oxigénio e nutrientes adquirem em resposta uma fisiologia alterada, o que inclui uma diminuição significativa na taxa de crescimento, tornando-as mais resistentes à absorção de agentes tóxicos, nomeadamente antibióticos, tensioactivos, detergentes e desinfectantes (citado em Bower *et al.*, 1996).

3.2.2 Fase de Maturação e Manutenção

Um biofilme adquire uma estrutura organizada quando existem as condições necessárias para um suficiente crescimento e aglomeração, denominando-se este processo por maturação. O biofilme maduro pode consistir numa única camada de células num polímero poroso extracelular ou multicamadas ligeiramente comprimidas de microcolónias agregadas em conjunto com EPS e intercaladas com canais de água. A estrutura de um

biofilme pode ser influenciada pela presença de níveis elevados de nutrientes, depósitos macroscópicos e microscópicos de resíduos de alimentos ou pelo stress provocado pela frequente limpeza, higienização ou processamento (Chmielewski & Frank, 2003).

A teoria corrente acerca da estrutura do biofilme é denominada de Modelo Discreto e assenta nas evidências fornecidas pela microscopia de varredura confocal a laser, sendo que através deste instrumento observa-se uma estrutura do biofilme sob a forma de cogumelo/tulipa com torres, pedestais, e canais de água, sendo a parte superior em forma de cogumelo, com uma haste estreita penetrada por canais (Wimpenny, Manz & Szewzyk, 2000).

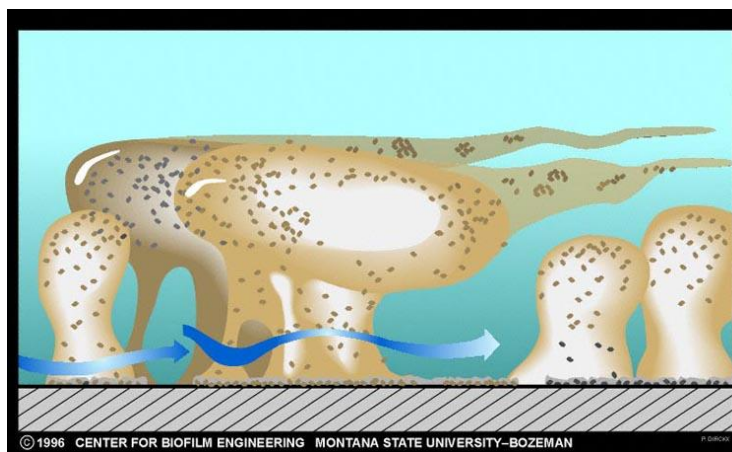


Figura V – Estrutura de um biofilme (*Center for Biofilm Engineering Montana State University, 1996*)

De acordo com Chmielewski e Frank (2003) o desenvolvimento de um biofilme pode ser influenciado por diversas variáveis como as propriedades da superfície e da interface; a disponibilidade de nutrientes; a composição da comunidade microbiana; a hidrodinâmica; a interacção inter-espécies e o transporte celular. Relativamente às propriedades de interface de uma superfície, um estudo efectuado em biofilmes em garrafas de água mineral (Jones, Adams, Zhdan & Chamberlain, 1999) demonstraram que as diferentes características físicas podem criar um microambiente que selecciona diferentes comunidades de microflora. Enquanto a superfície lisa das garrafas de politereftalato de etileno (PET) foi escassamente colonizada por bactérias em forma de bastonete, a superfície rugosa e mais hidrofóbica das tampas foi preenchida por bactérias em forma de cocos.

A disponibilidade de nutrientes também exerce uma acentuada influência sobre a estrutura do biofilme, bem como na composição e distribuição da comunidade microbiana. Nas camadas superiores da matriz do biofilme, próximas dos canais de água, predominam as bactérias metabolicamente mais activas (Zhang & Bishop, 1994). Estes canais permitem a dispersão e troca de matéria orgânica dissolvida, catiões de metais e seus metabolitos, sendo que os nutrientes ficam presos e concentram-se na matriz do biofilme, movendo-se por difusão por toda esta estrutura, como resultado forma-se um habitat estratificado e seleccionado para diferentes espécies microbianas (Stewart *et al.*, 1997).

Em meios ambientes de stress, os biofilmes constituídos por culturas mistas são mais estáveis do que os biofilmes de uma só espécie. A estabilização das culturas mistas pode ocorrer devido à produção de uma variedade de materiais de EPS resultantes da actividade de diferentes microrganismos (Kumar & Anan, 1998).

A própria hidrodinâmica exerce também influência na estrutura e conteúdo do biofilme, através da taxa de fluxo ou da força do ambiente líquido. Considerando o fluxo laminar como a difusão molecular no transporte intracelular, a sua acção origina agregados de células irregulares e arredondados que se encontram separados por espaços livres de células, sendo que um fluxo turbulento produz estruturas irregulares e alongadas (Davey & O'Toole 2000).

3.2.3 Fase de Desagregação

Do pouco que se sabe sobre o que regula ou quais as etapas envolvidas na desagregação dos microrganismos no biofilme, a escassez de alimento é apontada como uma possível causa para separação da comunidade microbiológica (Chmielewski & Frank, 2003). Bryers (1987) sugere que à medida que um biofilme passa pela fase da maturação vai aumentando o seu tamanho, formando-se um ambiente anaeróbico no seu interior o que resulta num aumento da acidez e acumulação de gases insolúveis. Estas condições enfraquecem a estrutura do biofilme e provocam o desprendimento de camadas do polímero da superfície de apoio.

O desequilíbrio ou variação da disponibilidade de nutrientes também poderá favorecer o desprendimento do biofilme. No caso do carbono uma baixa disponibilidade pode causar o

aumento da produção de EPS o que leva à desagregação e altos níveis de carbono disponível também pode desencadear o mesmo processo (Kim & Frank, 1995).

3.3 Características das Células Microbianas que Favorecem Formação de Biofilmes

De acordo com Houdt e Michiels (2010) a superfície da célula bacteriana possui uma diversidade de estruturas e moléculas que determinam as propriedades de adesão e consequente formação do biofilme, associado às diferentes estruturas estão diferentes papéis que produzem efeitos específicos dependendo da bactéria e da superfície de fixação.

3.3.1 Flagelos

Para que uma célula possa alcançar, superar as forças de repulsão e deslocar-se ao longo de uma superfície necessita ser dotada de mobilidade, facilitando assim o crescimento e disseminação do biofilme. A mobilidade das bactérias está muitas vezes associada à presença dos flagelos, sendo este considerado um factor de virulência dado facilitar a colonização de organismos hospedeiros por bactérias patogénicas (Houdt & Michiels, 2010). O processo de mobilidade flagelar é fundamental no sentido em que permite proceder ao contacto inicial entre a célula e a superfície de fixação e consequente formação de um biofilme. Um estudo efectuado por Vatanyoopaisarn, Nazli, Dodd, Rees e Waites (2000) permitiu verificar que o início da adesão de *L. monocytogenes* ao aço inoxidável pode ser afectado por flagelos, pelo que diferentes mecanismos de actuação destas estruturas podem afectar a adesão e formação de biofilme dependendo do tipo de bactéria em questão.

3.3.2 Apêndices de Superfície

As fímbrias e os pili são finas estruturas filamentosas da superfície bacteriana constituídas por subunidades de natureza proteica que conferem propriedades hidrófobas, facilitando assim a aderência a outras células (Ferreira *et al.*, 2010). As fímbrias são estruturas da superfície da célula que se projectam, sendo classificadas consoante a sua capacidade de adesão, propriedades físicas ou antigénicas e com base nas semelhanças da sequência primária de aminoácidos das subunidades da sua proteína principal (Houdt & Michiels,

2010). Os pili têm uma estrutura idêntica às fímbrias e medeiam o processo de transferência de material genético denominado de conjugação, sendo que este processo pode estimular o desenvolvimento de biofilme dado agir como um factor de adesão da superfície celular permitindo o contacto célula-superfície e célula-célula (Ghigo, 2001).

3.3.3 Polissacarídeos de Superfície

Muitas bactérias produzem e segregam polissacarídeos extracelulares que quando se formam em camadas no exterior da célula constituem o glicocálix, no entanto, quando as camadas são rígidas e organizadas numa matriz apertada que exclui partículas é constituída a cápsula. Os EPS são componentes da matriz extracelular que caracteristicamente são produzidos por muitos biofilmes, desempenhando um papel importante na formação de um biofilme, assim como no aumento da resistência a biocidas, por parte das bactérias que formam o biofilme (Houdt & Michiels, 2010).

3.3.4 Capacidade de Comunicação

Um dos modos de comunicação utilizados no reino bacteriano, por forma a orientar o comportamento de células individuais, populações ou comunidades, e que já demonstrou ser de extrema importância no processo de formação e desenvolvimento de biofilmes é o *quorum sensing*, baseando-se em moléculas sinalizadoras de natureza diversificada que regulam o comportamento de bactérias de acordo com a densidade populacional. Uma baixa densidade de células bacterianas diminui a concentração extracelular dos sinais, permanecendo estes sem ser detectados. Em contrapartida, uma alta densidade de população em crescimento (biofilme) permite alcançar uma concentração crítica do sinal, possibilitando que a sinalização molecular seja sentida e uma consequente resposta por parte bactérias (Houdt & Michiels, 2010).

O *quorum sensing* controla diversas funções como a virulência, o desenvolvimento de biofilme, assim como a produção de compostos antimicrobianos e vários outros metabólitos secundários. Este mecanismo de comunicação bacteriano pode ainda exercer influência sobre o estabelecimento de indivíduos na comunidade que constitui o biofilme, o seu potencial de deterioração de alimentos, assim como a sua sobrevivência em ambientes stressantes como o de processamento de alimentos. Outros factores relacionados

com formação de biofilme podem também ser regulados por este mecanismo, como é o caso da mobilidade e da produção de apêndices de superfície (citado em Houdt & Michiels, 2010).

É consensual que o *quorum sensing* evoluiu, permitindo às bactérias coordenarem o comportamento de grupo através da regulação de genes específicos via sinais moleculares. Tal facto proporciona uma exploração mais eficiente do meio em relação ao que seria possível se cada célula estivesse dispersa e não agregada (Viana, 2006).

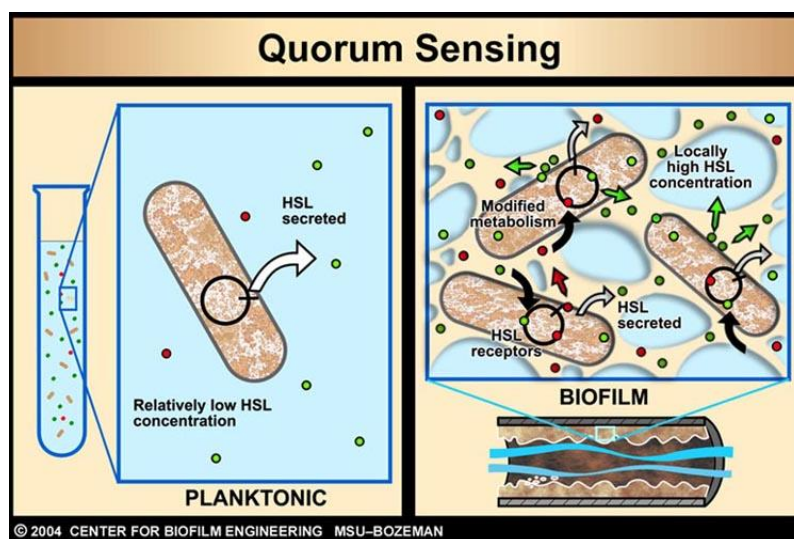


Figura VI: Esquematização do processo de comunicação das bactérias - *quorum sensing* (Center for Biofilm Engineering Montana State University, 2004)

3.3.5 Resistência Microbiana

O fenómeno associado à resistência microbiana pode estar relacionado com diferentes factores, nomeadamente a penetração lenta ou incompleta do biocida no biofilme, uma fisiologia alterada das células do biofilme em resultado de uma resposta adaptativa face ao stress ou a diferenciação de uma pequena subpopulação de células (Houdt & Michiels, 2010). A escassez de oxigénio e nutrientes verificada nas células das camadas mais profundas do biofilme resulta em taxas de crescimento menores, o que faz com que adquiram um estado *quasi-dormant*, que por sua vez provoca um aumento da resistência a biocidas o que resulta numa maior probabilidade de sobrevivência e posterior contaminação de alimentos (Evans, Allison, Brown & Gilbert, 1991).

A exposição de células do biofilme a antibióticos provocam como resposta o aumento da produção de EPS, o que por seu turno resulta numa proliferação da matriz do biofilme, sendo que quando o EPS não é removido através de higienização proporciona locais de fixação e nutrientes para os microrganismos recém-chegados ao sistema (Sailer, Meberg & Young, 2003).

3.4 Tipologia de Materiais e a Adesão

A adesão microbiana sob forma de biofilme é uma problemática relevante no âmbito da segurança alimentar, ocorrendo numa variedade de superfícies que entram em contacto com os alimentos, pelo que o uso destas superfícies nas actividades agro-alimentares deve atender às especificações dispostas na legislação em vigor.

Superfícies que contactam com os alimentos constituídas por materiais como o vidro, aço inoxidável, polipropileno, borracha, entre outros podem se encontrar desgastados e apresentar fissuras e fendas com espaço suficientemente para albergar colónias de microrganismos. O desgaste das superfícies favorece a acumulação de substrato, tornando o processo de higienização mais difícil e menos eficaz em relação às superfícies lisas, isto porque os defeitos de superfície funcionam como protecção contra a remoção das bactérias (Chmielewski & Frank, 2003).

Associado ao tipo de superfície pode também estar o mecanismo de resistência a detergentes exibido pelas células de um biofilme. Estudos efectuados por Krysinski, Brown e Marchisello (1992) associaram a resistência de *L. monocytogenes* com o tipo de superfície sobre a qual as bactérias tinham aderido, permitindo concluir que as superfícies de aço inoxidável eram mais facilmente limpas e higienizadas do que as de poliéster ou poliéster-poliuretano. Superfícies em aço inoxidável apresentam resistência aos danos provocados por impactos exercidos, sendo no entanto vulneráveis à corrosão; enquanto superfícies de borracha são propensas à deterioração, podendo desenvolver rachaduras propensas à acumulação de bactérias (Forsythe, 2002).

Rogers, Dowsett, Dennis, Lee e Keevil (1994) procederam à escalonização de materiais frequentemente utilizados na indústria alimentar consoante a capacidade de suporte de crescimento de biofilme para *Legionella pneumophila*, aumentando do vidro, para o aço

inox, polipropileno, policloreto de vinila (PVC) clorado, PVC não plastificado, aço carbono, polietileno, etileno-propileno ao látex.

A escolha do tipo de material assume uma grande relevância no design das superfícies que contactam com alimentos. Devendo ser consideradas propriedades como a ausência de rugosidade, facilidade de limpeza e desinfecção, hidrofobicidade e vulnerabilidade ao desgaste, dado influenciarem a capacidade de adesão dos microrganismos, com influência sobre o estado de higiene do utensílio (Houdt & Michiels, 2010).

No entanto a formação de um biofilme não é apenas determinada pela natureza da superfície onde ocorre a adesão, mas também como referido anteriormente, pelas características da célula bacteriana e por factores ambientais do meio envolvente, nomeadamente entre outros, a temperatura, disponibilidade de nutrientes e pH. A formação de biofilmes em ambientes de processamento de alimentos revela especial importância, pelo facto de potencialmente poderem se tornar uma fonte de contaminação microbiana com consequente deterioração dos alimentos e transmissão de doenças potencialmente graves.

3.5 Formas de Impedir a Formação de Biofilmes

Segundo Meyer (2003) é considerado praticamente impossível prevenir completamente a formação de biofilmes, dado que o fenómeno de adesão de microrganismos a superfícies constitui um processo relativamente rápido. Uma estratégia utilizada para prevenir a formação de biofilmes é a aplicação de um processo de desinfecção regular que anteceda o início da adesão, no entanto em alguns campos da indústria alimentar é quase impraticável estabelecer uma frequência tal que evite o início da formação de biofilmes.

Assim, um programa de higienização adequado que englobe o tratamento mecânico e quebra química com recurso ao uso de detergente para remoção da camada externa constituída por material orgânico e desinfectante para eliminação da massa microbiana é condição essencial para a inibição da formação de biofilmes (Forsythe, 2002).

A escolha de um desinfectante adequado revela-se um factor essencial e que terá de ter em consideração a natureza do biofilme existente, sendo que a limpeza como etapa prévia à desinfecção constitui um pré-requisito que pode influenciar os resultados obtidos.

O processo de remoção de biofilmes é também significativamente influenciado pela aplicação de forças mecânicas durante a higienização de superfícies, sendo que a aplicação deste procedimento otimizará os resultados da eliminação dos microrganismos através da desinfecção (Meyer, 2003). A total eliminação da carga microbiana morta após ter sido sujeita à desinfecção é imprescindível que aconteça de modo a evitar que funcione posteriormente como um filme condicionante e como fonte de nutrientes para uma nova formação de biofilme (Forsythe, 2002).

Um estudo realizado em Portugal sobre conhecimentos gerais e práticas de manipuladores de alimentos, demonstrou que 93% dos manipuladores de alimentos identifica os desinfectantes como o melhor processo de eliminar as bactérias; no entanto, 24% desconhecia a necessidade limpar com água potável os utensílios e superfícies, após o uso de desinfectantes (Gomes, Araújo, Ramos & Cardoso, 2007).

Aspectos como o design dos equipamentos e o *lay-out* são importantes para a prevenção e controlo dos biofilmes, no sentido em que devem ter em consideração a facilitação dos procedimentos de higienização. A microtopografia da superfície também poderá interferir com os procedimentos de limpeza, dado que fendas e outras imperfeições conferem protecção às células aderidas. Uma outra abordagem assenta na selecção do tipo de material que constitui as superfícies de acordo com as próprias características, sendo este aspecto crucial em termos da prevenção de formação de biofilmes, em consonância com o que foi anteriormente referido no ponto 3.4.

Várias aplicações têm, ainda, vindo a ser desenvolvidas relativamente à introdução de modificações específicas nas propriedades higiénicas de materiais e superfícies de corte, com o propósito de serem incorporados compostos que os tornem antimicrobianos e /ou menos susceptíveis à fixação de biofilmes. Tal acontece em equipamentos como cabos de facas, caixas de plástico, tábuas de corte, entre outros, com o intuito de potenciar deste modo a segurança alimentar. Guerra *et al.* (2005) mostraram que a nisina, um peptídeo antimicrobiano também usado como conservante de alimentos incorporado em superfícies

de aço inoxidável, borracha e PET, mantém uma actividade antibacteriana e inibe o crescimento de *Enterococcus hirae*.

Um outro exemplo prende-se com a deposição de uma camada de polietileno glicol em aço inoxidável com influência directa no seu estado de higiene, como ficou demonstrado através da diminuição entre 81 a 96% da fixação e formação de biofilme da *L. monocytogenes*, permitindo esta técnica a redução da deposição bacteriana em ambientes de processamento de alimentos (Dong, Manolache, Somers, Wong & Denes, 2005).

Por outro lado um estudo efectuado por Moretro, Pettersen, Habimana, Heir e Langsrud (2011) relativamente ao efeito antibacteriano potenciado em tábuas de corte através da incorporação do triclosan, uma substância recentemente retirada da lista de aditivos autorizados a ser adicionados em superfícies de plástico que contactam com alimentos, demonstrou que o seu funcionamento como barreira higiénica só ocorre sob determinadas condições como baixa humidade, tempo de exposição prolongado, bem como em adequadas condições de higiene. O facto de não ser activo contra todo o tipo de bactérias, aliado às condicionantes anteriormente referidas levanta a questão se a melhoria das condições higiénicas devido ao seu uso se sobrepõe à problemática associada ao desenvolvimento de resistência microbiana decorrida do uso generalizado de triclosan, sendo ainda de considerar que o composto pode passar para os alimentos e provocar efeitos tóxicos no homem.

CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS

CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS

1. Amostra

O presente estudo foi realizado em duas instituições de ensino a nível pré-escolar, nomeadamente uma creche e um jardim-de-infância (JI). A selecção destes dois estabelecimentos de ensino teve em consideração o seguinte:

- Ambos utilizam no serviço de refeições, utensílios de plástico e aço inoxidável, dado estarem associados a um menor risco em termos físicos para a segurança das crianças de idade pré-escolar;
- As características associadas à população que frequenta aquelas escolas, nomeadamente crianças pequenas e que apresentam uma maior vulnerabilidade aos factores de risco;
- O facto de apresentarem divergências em termos das características estruturais, dado que enquanto o edifício onde está instalada a creche constitui uma construção recente, a estrutura do edifício do JI, e particularmente a cozinha, revela deficiências dado tratar-se de um edifício mais antigo;
- As diferenças verificadas em termos de procedimentos associados à segurança alimentar, dado que enquanto na cantina da creche estão a ser implementadas boas práticas e procedimento baseados nos princípios do sistema HACCP, o mesmo não se verifica no JI onde este sistema ainda não se encontra implementado.

As escolas incluídas no estudo pertencem à mesma freguesia de um concelho pertencente ao distrito de Braga e são ambas instituições privadas de solidariedade social.

2. Recolha de Dados

As etapas que constituíram o desenvolvimento do estudo englobaram uma primeira visita a cada uma das cantinas para uma análise diagnóstica através da observação *in loco* de aspectos considerados importantes como as infra-estruturas, funcionamento e procedimentos implementados, podendo estes aspectos influenciar directa ou indirectamente o processo de higienização de loiça e utensílios. Seguindo-se uma segunda

e terceira visitas às cozinhas no sentido de se recolherem amostras para posterior análise microbiológica efectuada no laboratório da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto.

2.1 Instrumento

Foi elaborada uma *checklist* (Anexo I) para ser utilizada como instrumento na avaliação das condições inerentes ao processo de higienização de loiça e utensílios em cada um dos estabelecimentos escolares, tendo por base a legislação em vigor, bem como aspectos fundamentais inerentes ao processo de higienização abordados na literatura.

Os vários itens incluídos no modelo de avaliação e que serviram de base para o diagnóstico das condições de higienização de cada uma das escolas foram agrupados de acordo com aspectos inerentes ao processo de higienização, nomeadamente “condições gerais de instalação e funcionamento”; “loiça/utensílios”; “pré-lavagem manual”; “lavagem/desinfecção”; “detergentes/desinfectantes”; “secagem; armazenagem”; “manipuladores” e “*lay-out*”.

O desenho deste instrumento de trabalho teve o objectivo de permitir a recolha de dados de uma forma organizada e sistematizada, sendo que o seu preenchimento pretende assinalar se cada um dos itens, caso aplicável, está ou não em conformidade com os procedimentos adequados, bem como permitir incluir outras observações consideradas pertinentes.

Foi efectuada uma visita a cada um dos estabelecimentos de ensino seleccionados para observação e registo de informação através do preenchimento da lista de verificação, complementada com uma ficha de campo para anotações inerentes a aspectos da colheita considerados pertinentes para a interpretação dos resultados (Anexo II). Complementarmente foi efectuada um levantamento fotográfico no momento das colheitas, sendo que todos os dados recolhidos serviram de base para uma análise do modo como se processa a higienização de loiças e utensílios.

2.2 Amostragem e Análise

No âmbito deste trabalho foram analisados utensílios usados pelas crianças nas refeições servidas nas duas instituições de ensino, tendo sido efectuadas duas visitas com um

intervalo de tempo de uma semana, onde se procedeu à realização de colheitas no período de normal funcionamento da cantina, nomeadamente após o término das refeições e na fase de arrumação e higienização da cozinha e refeitório. As amostragens foram realizadas em dois momentos distintos dado que na primeira amostragem os utensílios já se encontravam armazenados após higienização, enquanto na segunda amostragem os utensílios tinham acabado de ser higienizados após lavagem na máquina.

As análises foram similarmente distribuídas por ambas as escolas, tendo englobado a realização de 48 esfregaços a diferentes utensílios (correspondente a um total de 240 utensílios dado serem resultado da amostragem efectuada em cinco peças análogas), a recolha de 11 utensílios e a colheita de 4 amostras de água de lavagem, perfazendo um total de 251 utensílios de plástico e aço inoxidável, sendo este o tipo de material normalmente mais utilizado nesta faixa etária.

2.2.1 Esfregaços a Utensílios

A técnica escolhida para a colheita de amostras foi o método de esfregaço, dado ser considerada a mais adequada face às características dos utensílios a analisar e dado no momento não haver informação sobre o nível de contaminação associado.



Figura VII – Registo fotográfico de alguns utensílios usados nas escolas em estudo

Esta técnica utilizada (referenciada no protocolo do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo - INSA) consiste em friccionar uma zaragatoa estéril e humedecida em solução salina estéril de Ringer (OXOID, Inglaterra) nos utensílios a ser avaliados. O esfregaço

realizou-se com pressão constante, em movimentos giratórios, fazendo aproximadamente um ângulo de 30° com a superfície a analisar em várias direcções perpendiculares umas às outras, tendo o cuidado de ir rodando a zaragatoa com os dedos.

A superfície onde foi feito o esfregação abrangeu diferentes áreas conforme a peça onde este foi realizado, nomeadamente a superfície interna em contacto com os alimentos no caso de pratos e tigelas; a superfície interna e externa até cerca de 3 cm abaixo do bordo no caso de canecas; e na parte interna e externa em contacto com o alimento em colheres, facas e garfos, bem como entre os dentes destes últimos.

Cada colheita realizada incluiu cinco peças análogas, sendo que a zaragatoa foi mergulhada na solução após esfregação de cada peça, sendo retirado o excesso de líquido pressionando a zaragatoa contra as paredes internas do tubo.

No final da colheita a parte manuseada da haste foi quebrada na borda interna do frasco que continha 5 ml a solução de Ringer (OXOID, Inglaterra) antes de se mergulhar o material amostrado com os eventuais microrganismos aderidos, sendo posteriormente a amostra devidamente identificada.

Foram sempre garantidas as condições de assepsia durante as várias colheitas efectuadas, tendo sido aplicado procedimentos controlados no material utilizado, na selecção do local apropriado para a realização da colheita (com a utilização de um flamejador durante a mesma), na higienização e desinfecção das bancadas e mala térmica, bem como na utilização de equipamento de protecção individual.

O transporte das várias amostras foi efectuado sob condições higienicamente adequadas e em condições rigorosas de tempo e temperatura, tendo este sido efectuado sob refrigeração em mala isotérmica num espaço de tempo inferior a 4 horas até ao laboratório.

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada pela técnica de espalhamento, tendo sido plaqueado 0,1 ml da amostra previamente homogeneizada no vortex. O meio de cultura utilizado foi o Agar Nutritivo (MERCK, Alemanha), seguido de incubação a 30 °C (estufa SELECTA, Espanha) durante um período de 72 horas. A contagem de enterobactérias foi efectuada pela técnica de incorporação no meio *Eosin*

Methylene Blue (EMB), tendo sido plaqueado 1 ml da amostra previamente homogeneizada no vortex, sendo posteriormente efectuada incubação a 37 °C (estufa BINDER, USA) durante 24-48 horas.

A inoculação foi efectuada em duplicado, tendo-se procedido ao cálculo da média da contagem do número de colónias obtidas em cada placa. No cálculo de UFC/peça foi considerado o volume inicial da recolha, o número de peças análogas e o volume plaqueado.

Uma vez que não existe referência específica na legislação para valores de contaminação microbiana em utensílios alimentares com risco para a saúde, os resultados deste trabalho foram avaliados tendo como base o critério de valores de referência relativos à monitorização do estado higiénico de louças e talheres em contacto com alimentos, proposto pelo INSA. Segundo estas orientações o estado higiénico é considerado inadequado quando o n.º dos Microrganismos aeróbios mesófilos for superior a 100 UFC por peça e a pesquisa de coliformes totais, fecais de *E.coli* for positiva.

Colónias predominantes crescidas nos diferentes meios de cultura foram repicadas novamente para agar nutritivo e isoladas. Foram efectuados testes básicos de identificação: teste da coloração de Gram, teste da oxidase e teste da catalase. A observação da morfologia celular e do tipo da parede celular foram efectuadas com recurso ao microscópio óptico.

2.2.2 Enriquecimento em Água Peptonada

A técnica de pré-enriquecimento com água peptonada foi utilizada com o objectivo de promover o crescimento microbiano presentes na superfície ou área de difícil acesso. Foi colocado o utensílio em contacto com um volume significativo de água peptonada, que após um período de incubação a 30°C, permitiria o crescimento microbiano observado por maior ou menor turvação do meio.



Figura VIII – Registo fotográfico utensílios sujeitos a enriquecimento em água peptonada

Foram recolhidos vários utensílios de material plástico (canecas) e em aço inoxidável (talheres) utilizados nas refeições, colocados assepticamente em saco estéril devidamente etiquetado. O transporte das várias amostras foi efectuado sob condições de higiene adequadas e em condições controladas de tempo e temperatura, em mala isotérmica sob refrigeração e num espaço de tempo inferior a 4 horas até ao laboratório.

Em cada utensílio foi colocado cerca de 150 a 250 ml de água peptonada (MERCK, Alemanha) em condições assépticas. No caso das canecas foi preenchido até ao bordo interno, tendo sido colocadas a incubar a 30°C (estufa SELECTA, Espanha) durante 24 horas. Passado o tempo de incubação, cada saco foi observado em relação à presença de crescimento por indicação de turvação. Foram plaqueados 0,1 ml da cultura para placa contendo agar nutritivo e deixar incubar a 30°C durante 24h. Colónias predominantes crescidas no meio foram repicadas novamente para agar nutritivo e isoladas. Foram efectuados testes básicos de identificação: teste da coloração de Gram, teste da oxidase e teste da catalase. A observação da morfologia celular e do tipo da parede celular foram efectuadas com recurso ao microscópio óptico.

2.2.3 Análise da Água de Lavagem

Este método permite quantificar microrganismos presentes na água de lavagem, podendo eventualmente fornecer informação sobre o estado da água de lavagem no final do ciclo de lavagem.



Figura IX – Registo fotográfico das máquinas de lavar loiça onde foi colhida a água de lavagem

As amostras de água de enxaguamento foram assepticamente recolhidas em frascos de plástico estéril, com capacidade de 500 ml e que continham como neutralizador de cloro o tiosulfato de sódio. A colheita consistiu em mergulhar e encher os frascos no interior do reservatório da máquina de lavar, sendo estes posteriormente tapados e identificados.

O transporte das várias amostras foi efectuado sob condições higienicamente adequadas e em condições rigorosas de tempo e temperatura, tendo este sido efectuado sob refrigeração em mala isotérmica num espaço de tempo inferior a 4 horas até ao laboratório.

As amostras foram previamente homogeneizadas, sendo de seguida retirado 0,1 ml de cada amostra em duplicado, e plaqueado pela técnica de espalhamento em agar nutritivo. Um conjunto de placas foram a incubar a 22°C e outras a incubar a 37°C. Após incubação foram contabilizadas o número de colónias e calculado o UFC/ml para microrganismos mesófilos totais a 22°C e a 37°C.

A técnica de filtração por membrana foi utilizada para quantificar microrganismos *Enterococcus* sp. Para isso foi filtrado 100ml de cada amostra, por vácuo, através de uma membrana estéril de nitrato de celulose de 0,45 µm de porosidade, com 47 mm de diâmetro (*Pall Corporation*, USA). Após filtração, a membrana foi recolhida com ajuda de pinça estéril para meio *Slanetz & Bartley*. As placas foram a incubar durante 24h a 37°C. A existência de colónias típicas castanhas ou rosas indicavam a presença presuntiva de

Enterococcus. A confirmação foi efectuada em meio agar esculina e azida, com passagem das colónias típicas para cor negro e confirmação do teste catalase negativa.

3. Análise e Tratamento de Dados

Para se efectuar a análise dos dados procedeu-se a um cruzamento entre as informações recolhidas através das observações registadas *in loco* durante as visitas e os resultados das análises bacteriológicas efectuadas aos utensílios. A análise e o tratamento estatístico dos dados obtidos foram realizados com a utilização das aplicações Microsoft Office – Windows e Excel, versão 2007, sendo os valores numéricos das contagens transformados em médias e convertidos para valores decimais logarítmicos ($\log/\text{UFC}/\text{utensílio}$).

CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Avaliação Diagnóstica

A caracterização do processo de higienização de loiças e utensílios dos estabelecimentos de ensino foi efectuada com base nos requisitos estruturais e funcionais inerentes ao processo e considerados na *checklist* elaborada. Os resultados são apresentados de acordo com os itens avaliados, nomeadamente “Condições Gerais de Instalação e Funcionamento”, “Loiça/Utensílios”, “Pré-Lavagem Manual”, “Lavagem/Desinfecção”, “Detergentes/Desinfectantes”, “Secagem”, “Armazenagem” e “Manipuladores”.

1.1 Condições Gerais de Instalação e Funcionamento

Relativamente às condições gerais de instalação e funcionamento observadas, foram avaliados 16 itens que englobaram aspectos relacionados com as infra-estruturas e equipamento, bem como requisitos referentes aos procedimentos de higiene e segurança e respectivos registos. Da totalidade dos itens foram seleccionados 7, considerados críticos por de uma forma directa ou indirecta poderem envolver o processo de higienização, sendo os resultados de cada escola revertidos na tabela IV.

Tabela IV – Frequência de incumprimentos dos itens referentes às condições gerais de instalação e funcionamento da cozinha, em cada uma das escolas

	Creche	Jl
N.º Incumprimentos/N.º Total de Itens Avaliados	5/16	10/16
N.º Pontos Críticos Observados/N.º Total de Pontos Críticos	2/7	6/7

Através dos dados obtidos é possível verificar que a percentagem de incumprimentos relativos às condições gerais de instalação e funcionamento do Jl (62,5%) é duas vezes superior aos verificados na creche (31,3%). Similarmente em relação aos pontos críticos verificou-se um incumprimento muito superior no Jl (85,7%) em relação ao verificado na creche (28,6%).

Na tabela V encontram-se descritos os pontos críticos que associados ao processo de higienização poderão ser determinantes no resultado higiénico das loiças e utensílios.

Tabela V – Verificação do cumprimento dos itens críticos por escola

	Creche	Jl
▪ Adequado estado geral de limpeza e conservação.	Sim	Não
▪ Existência de lavatório de serviço para higienização das mãos, equipado com comando não manual.	Sim	Sim
▪ O lavatório de serviço encontra-se equipado com dispositivo de sabão líquido apropriado para a lavagem das mãos.	Não	Não
▪ O lavatório de serviço encontra-se equipado com dispositivo de líquido bactericida para a desinfecção das mãos.	Sim	Não
▪ O lavatório de serviço encontra-se equipado com dispositivo de toalhetes individuais para secagem das mãos.	Sim	Não
▪ Existência de recipiente para o lixo dotado de tampa e accionado por pedal.	Não	Não
▪ Encontra-se implementado um plano baseado no sistema HACCP.	Sim	Não

Na análise dos resultados verifica-se que as situações de incumprimento estão directamente relacionadas com a ausência de procedimentos correctos de higiene, salientando-se a inexistência de soluto de lavagem e líquido bactericida para se efectuar uma adequada lavagem/desinfecção das mãos, bem como a ausência de recipiente para colocação de resíduos dotado de tampa e pedal. A ausência de equipamento e infra-estruturas cumulativamente com práticas desadequadas poderão promover a contaminação cruzada através da loiça e utensílios, em resultado de uma inadequada manipulação.

Pela observação dos resultados pode-se ainda constatar que o Jl foi a escola onde se verificou um maior número de incumprimento dos pontos considerados como críticos, salientando-se que para além das falhas relativas ao equipamento também se verificou em termos de infra-estruturas um inadequado estado geral de conservação. Constatando-se ainda, nesta escola, a inexistência da aplicação de um sistema baseado nos princípios de HACCP, que constitui uma reconhecida abordagem para a prevenção e controlo de DTA.

1.2 Loiças e Utensílios

Dos itens referentes às loiças e utensílios alimentares utilizados, salienta-se que a linha de serviço de refeições de ambas as escolas incluía dois diferentes tipos de materiais: o inox (talheres) e o plástico (pratos e canecas), tendo-se observado a presença de simbologia associada ao uso alimentar (☞). Pela observação dos utensílios foi possível verificar a existência de algumas fissuras presentes na superfície, principalmente nos constituídos por material plástico e em alguns de inox, particularmente as colheres. A tabela VI indica o ano de aquisição dos utensílios referente a cada uma das escolas.

Tabela VI – Ano de aquisição dos utensílios usados nas escolas

	Creche	Jl
Ano de Aquisição dos Utensílios	2004	2009

A antiguidade dos utensílios alimentares representa, em conjunto com outros factores, uma questão a equacionar na eficácia da higienização, dado que irregularidades inerentes às superfícies e decorrentes do desgaste devido ao uso poderão favorecer a formação de biofilmes.

Num estudo onde foi avaliado o efeito do tipo de material usado em utensílios alimentares em relação à eficácia dos protocolos de lavagem e desinfecção em restaurantes, foi verificado que o plástico constituiu o material contaminado com uma maior carga microbiana, seguido da cerâmica e do vidro. Tal facto foi associado à topografia rugosa dos utensílios de plástico, causada pelo desgaste deste tipo de material devido a características como a baixa dureza e facilidade de riscar (Sigua *et al.*, 2011). Numa avaliação efectuada por Kochanski *et al.* (2009) relativamente às condições microbiológicas de utensílios alimentares utilizados numa unidade de alimentação, foi observado que nenhum dos utensílios analisados apresentou valores de microrganismos aeróbios mesófilos dentro dos valores considerados como aceitáveis. Sendo salientado que uma manutenção adequada e um bom estado de conservação são condições essenciais para evitar que o desgaste permita a multiplicação da população microbiana.

1.3 Pré-Lavagem Manual

Ambas as instituições efectuam uma pré-lavagem manual da loiça e utensílios com recurso a água quente da rede pública, adição de um detergente profissional para lavagem manual de loiça e com ajuda mecânica da acção de esponjas e esfregões para remoção física dos resíduos. Sendo a pré-lavagem manual considerada uma etapa essencial na higienização de utensílios alimentares, pelo que a aplicação desta actividade irá otimizar o resultado final do processo de higienização.

1.4 Lavagem/Desinfecção

Foi verificada a utilização de um sistema de lavagem automático de loiça e utensílios nas duas escolas, observando-se as seguintes características:

- Utilização da mesma marca de equipamento de lavagem mecânica;
- Procedimentos de limpeza do equipamento com uma periodicidade diária;
- Inspeção ocasional do equipamento em caso de detecção de avarias;
- Utilização de água da rede pública e consequentemente com as mesmas características de dureza;
- Utilização de uma taxa de ocupação máxima do equipamento durante a lavagem;
- O cesto onde é colocada a loiça para lavagem ser constituído por material plástico no caso da creche, enquanto o JI apresentava uma grelha metálica com um revestimento plástico que se encontrava em mau estado de conservação e com sinais de ferrugem.

No estudo experimental efectuado por Sigua *et al.* (2011) relativamente às operações de lavagem da loiça em restaurantes permitiu estatisticamente aferir que a lavagem mecânica era mais efectiva do que a lavagem manual. Utensílios alimentares de plástico, cerâmica e vidro onde foram depositados resíduos alimentares previamente inoculados com *E. coli* K12 e *Listeria innocua* apresentaram, quando sujeitos a lavagem mecânica, um número mais elevado de ciclos de lavagem em que foi verificado uma redução de 5 log de bactérias, comparativamente aos resultados obtidos através da lavagem manual. Foi evidenciado que a acção mecânica apresenta um maior desempenho em termos de limpeza

e desinfecção, uma vez que a acção manual irá depender da experiência e conhecimento dos funcionários, bem como do protocolo de limpeza e desinfecção utilizado.

1.5 Detergentes/Desinfectantes

Os agentes químicos utilizados em ambas as instituições constituem produtos profissionais específicos para cada tipo de aplicação, encontrando-se acompanhados de fichas técnicas ou de fichas de segurança onde são mencionados aspectos importantes como propriedades, áreas de aplicação, modo de utilização e frases de risco e segurança, cuja consulta permitiu observar as seguintes características:

Tabela VII – Agentes químicos usados no processo de higienização da loiça e utensílios

Agente Químico	Creche	JI
Lavagem Manual	Produto neutro com uma combinação espumante e desengordurante	Produto neutro com uma combinação de tensioactivos aniónicos, não iónicos e emolientes
Lavagem Mecânica	Produto alcalino cáustico, com uma constituição base de hidróxido de sódio e apropriado para águas macias	Produto à base de substâncias alcalinas, dispersantes, agentes anti-reposição, inibidores de corrosão e sequestrantes
Secante/Abrilhantador	Mistura de tensioactivos não iónicos, com uma constituição base de benzoato de sódio e apropriado para águas macias e de média dureza	Formulado à base de humectantes, polímeros e um ácido orgânico em meio hidroalcoólico

A utilização de detergentes neutros na pré-lavagem proporciona uma acção que resulta da combinação das suas propriedades e acção tensioactiva com a acção mecânica de esfregar, com o intuito da remoção geral de resíduos. Na limpeza alcalina utilizada para a lavagem mecânica são usados agentes químicos desengordurantes adequados para o tratamento de resíduos de carácter orgânico como gorduras ou proteínas (Baptista, 2003).

O uso de produtos alcalinos ou não-iónicos é sugerido por Lewis (1980) para higienização de superfícies como vidro, cerâmica, plástico e aço inoxidável, sendo a utilização destes detergentes conjuntamente com a aplicação de desinfectante essencial para inactivar microrganismos.

É ainda de salientar o facto de na creche a dosagem ser automática e a diluição ser efectuada de acordo com as indicações do fabricante, enquanto no JI não são respeitadas as indicações de dosagem e diluição dos produtos ficando isto ao critério do funcionário, o que pode interferir com o resultado final do processo de higienização. Tendo-se, ainda, constatado que todos os produtos encontravam-se devidamente armazenados e que as embalagens apresentavam-se íntegras e fechadas em cada uma das escolas, constituindo este um factor importante para a manutenção das propriedades dos produtos e efectividade da higienização.

1.6 Secagem

Como no fim de cada ciclo de lavagem a loiça e utensílios não saem totalmente secos da máquina de lavar, foi observado a utilização de meios de secagem dos mesmos. Verificou-se que na creche a loiça era seca através da utilização de toalhetes descartáveis de material apropriado para uso alimentar, enquanto no JI observou-se a existência de várias toalhas de pano e felpos utilizadas como modo de secagem da loiça por parte das funcionárias, constituindo este um meio propício à contaminação por microrganismos. Relativamente ao tempo de exposição ao ar, foi referido em ambas as escolas que se limitava ao tempo decorrido entre a secagem da loiça e a posterior armazenagem.

1.7 Armazenagem

Relativamente ao local de armazenagem da loiça e utensílios pôde-se constatar que existem armários fechados, embora a porta do armário da creche não fechasse eficazmente e apresentasse um buraco de dimensões reduzidas, tendo ainda sido observado algum pó em ambos os locais. O tempo médio de armazenagem da loiça foi referido como sendo diário, uma vez que o número de utensílios corresponde aproximadamente ao número de refeições servidas, com excepção dos talheres do JI que se apresentavam em maior quantidade.

1.8 Manipuladores

Dos itens associados aos manipuladores de alimentos verificou-se que ambos os estabelecimentos tinham em prática:

- Vigilância regular das condições de saúde;
- Utilização de vestuário de protecção adequado;
- Não utilização de adornos;
- Apresentação de unhas curtas, sem verniz e sem feridas ou cortes desprotegidos.

Apesar das funcionárias de ambas as instituições de ensino já terem frequentado acções de formação em boas práticas e procedimentos de higiene, as manipuladoras da creche possuem um melhor acompanhamento dado pela empresa responsável pela implementação do sistema HACCP. Dada a possibilidade da ocorrência de contaminação cruzada através dos manipuladores de alimentos, a formação constitui uma ferramenta útil para a prevenção de toxinfecções alimentares resultantes da produção e distribuição de alimentos, através do incentivo à adopção de boas práticas e atitudes ou comportamentos que visem a segurança e higiene alimentar. Este aspecto é evidenciado num estudo efectuado ao conhecimento em termos higiénico de manipuladores de alimentos onde foi demonstrado que a falta de conhecimentos básicos em termos de higiene poderá ser a maior barreira para uma efectiva implementação do HACCP em estabelecimentos alimentares de pequena dimensão (Walker, Pritchard & Forsythe, 2003).

A correlação entre a formação e um melhor desempenho profissional em termos de boas práticas de higiene e de fabrico foi evidenciada por Mello, Gama, Marin e Colares (2010), através de um estudo efectuado para avaliação do conhecimento de 103 manipuladores de restaurantes do estado do Rio de Janeiro. Os resultados apontaram para uma correcção positiva entre o nível de conhecimento e a formação dos trabalhadores, tendo sido também observada uma correlação positiva entre a formação dos funcionários e a percentagem de adequação das condições higio-sanitárias. Sendo ainda salientada a influência de factores como uma supervisão e o desenvolvimento de programas de formação contínuos de modo a que o conhecimento adquirido pelos manipuladores seja aplicado no seu quotidiano profissional.

Um estudo efectuado por Colombo, Oliveira e Silva (2009) evidenciou também a necessidade da adopção de programas de formação realizados de uma forma lúdica e contínua, de modo a consolidar a aprendizagem e a fixação dos conhecimentos no sentido da prevenção das DTA. Os resultados indicaram que apesar de 70% das manipuladoras de alimentos de escolas e creches do estado do Paraná terem recebido formação sobre higiene

e boas práticas de fabricação na produção de alimentos, apenas 56% admitem que a principal forma de contaminação de alimentos ocorre através do manipulador. Uma percentagem idêntica de manipuladoras afirma apresentar-se ao serviço para realizar as suas tarefas, mesmo apresentando sintomas como diarreias, vômitos e lesões cutâneas.

2. Avaliação Microbiológica

As evidências levam a concluir que muito dificilmente algum tipo de material não permita a formação de biofilme (Meyer, 2003), não se esperando que os utensílios alimentares se apresentem estéreis, mas que contenham um baixo grau de contaminação, nomeadamente por microrganismos mesófilos e ausência de microrganismos patogénicos.

O resultado da análise das várias amostragens é apresentado tendo em consideração o valor de referência para os microrganismos mesófilos totais a 30°C referenciados pelo INSA, sendo indicado como inferior a 100 UFC/peça. Resultados sobre a presença de microrganismos do grupo *Enterobacteriaceae* são também apresentados. A tabela VIII mostra os resultados obtidos da avaliação microbiológica aos utensílios.

Tabela VIII – Frequência de contaminação de utensílios com presença de microrganismos mesófilos totais a 30°C e presença de microrganismos do grupo *enterobacteriaceae*

Parâmetro	Utensílios
Nº de microrganismos mesófilos totais a 30° C > 100 UFC/peça	55/240
Pesquisa positiva de enterobactérias	85/240

Os resultados analíticos dos esfregaços efectuados aos utensílios indicaram que 23% obtiveram resultados superiores aos valores referenciados pelo INSA para o número de microrganismos mesófilos totais a 30°C e 35% das amostras com presença de microrganismos do tipo *Enterobacteriaceae*. Em cinco amostras foi ainda obtida presença de colónias típicas de *E. coli*.

Dada a grande maioria das bactérias patogénicas de origem alimentar serem mesófilas, a evidência de uma alta contagem de microrganismos mesófilos aeróbios nos resultados das análises pressupõe a existência de condições favoráveis à sua multiplicação, estando implícito procedimentos inadequados sob o ponto de vista sanitário (Franco, 1996).

A presença de bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae* constitui um indicador de potencial contaminação fecal, associada a más práticas de higiene das manipuladoras e manipulação incorrecta dos utensílios. Salienta-se ainda que o meio de cultura utilizado é selectivo para a detecção de enterobactérias, como a *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, entre outros microrganismos patogénicos, cuja presença indica contaminação. Estes microrganismos estão associados ao habitat natural e ao tracto intestinal do homem e de outros animais.

Pela análise genérica dos resultados pode-se verificar que os níveis de contaminação por microrganismos mesófilos totais a 30°C presentes em alguns utensílios representam valores bastante elevados, variando desde a ordem dos 10² até 10³ UFC/utensílio, como se pode verificar através dos dados apresentados na tabela IX.

Tabela IX – Frequência de contaminação de utensílios, por intervalo de resultados, relativamente ao n.º de microrganismos mesófilos totais a 30°C, para cada estabelecimento de ensino

Microrganismos mesófilos totais (30°C)	Creche	Jl
Entre 100 a 500 UFC/peça	10/55	10/55
Entre 500 a 3000 UFC/peça	10/55	5/55
Mais de 3000 UFC/peça	15/55	5/55

Carga microbiana total superior a 100 UFC/utensílio, valor de referência proposto pelo INSA, indicou que cerca de 55 dos utensílios ultrapassaram este valor. O elevado nível de contaminação por microrganismos mesófilos totais em algumas amostras (> 3000 UFC), representa em média cerca de 20 utensílios, 15 dos quais pertencem à creche.

A creche foi a escola onde se verificou resultados menos favoráveis, sendo ainda de evidenciar que o resultado de 15 utensílios do JI estava muito próximo do limite estabelecido, nomeadamente entre 90 a 100 UFC/utensílio.

Num estudo efectuado para avaliação do estado de contaminação de tábuas de corte utilizadas na preparação de alimentos numa instituição de ensino superior em S. Paulo, os resultados mostraram que 90% das tábuas analisadas encontravam-se em condições higio-sanitárias insatisfatórias, verificando-se a presença de microrganismos mesófilos aeróbios, bolores, leveduras e enterobactérias (Pinheiro *et al.*, 2010). Em Itália, na realização de um total de 236 inspecções em 27 estabelecimentos de restauração após a implementação do sistema HACCP, constatou-se que os utensílios e superfícies de trabalho mostraram uma contaminação inaceitável em 10% das amostras (Legnani, Leoni, Berveglieri, Mirolo & Álvaro, 2004).

A análise efectuada a 36 utensílios e equipamentos de 12 restaurantes industriais de Minas Gerais revelou que apenas 18.6% apresentavam contagens de microrganismos mesófilos aeróbios dentro dos valores recomendados. Tendo sido detectado nas mãos de 68 manipuladores valores de contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios, coliformes totais, *S. aureus*, bem como fungos e leveduras (Andrade, Silva & Brades, 2003).

O resultado da avaliação efectuada no âmbito deste trabalho evidencia um estado higiénico não satisfatório em 27% das análises (figura X), tendo contribuído para este resultado o n.º de microrganismos mesófilos totais a 30° C, bem como a presença de colónias típicas de *E.coli*, não sendo no entanto comprovada a sua presença.

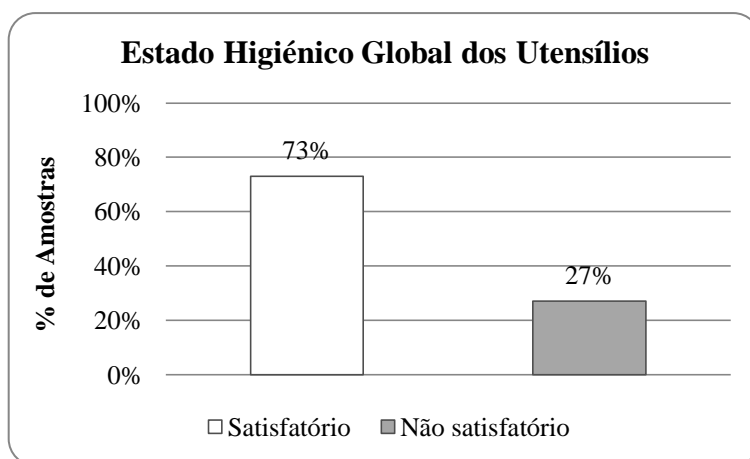


Figura X – Estado higiénico global dos utensílios

Refere-se ainda que os resultados não foram similares de uma amostragem para outra (figura XI).

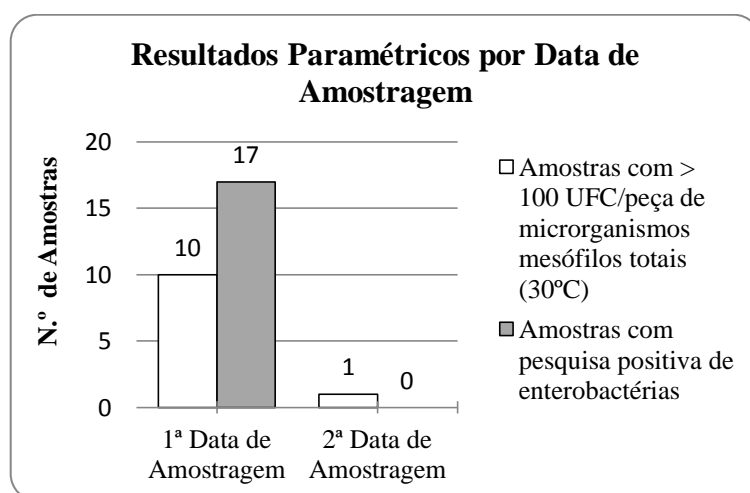


Figura XI – Resultados paramétricos por data de amostragem

À primeira data de amostragem estão associados 27 dos 28 resultados onde se verifica um nº de microrganismos mesófilos totais a 30°C superior a 100 UFC/utensílio, bem como a presença de enterobactérias, enquanto à segunda data de amostragem apenas está associado um caso relativo a um número elevado de microrganismos mesófilos totais a 30°C e não se verifica a presença de enterobactérias. Estes resultados são justificados provavelmente pelo facto de na primeira visita os utensílios onde foram feitos os esfregaços se encontrarem no local de armazenagem, enquanto na segunda visita a maioria dos esfregaços foram

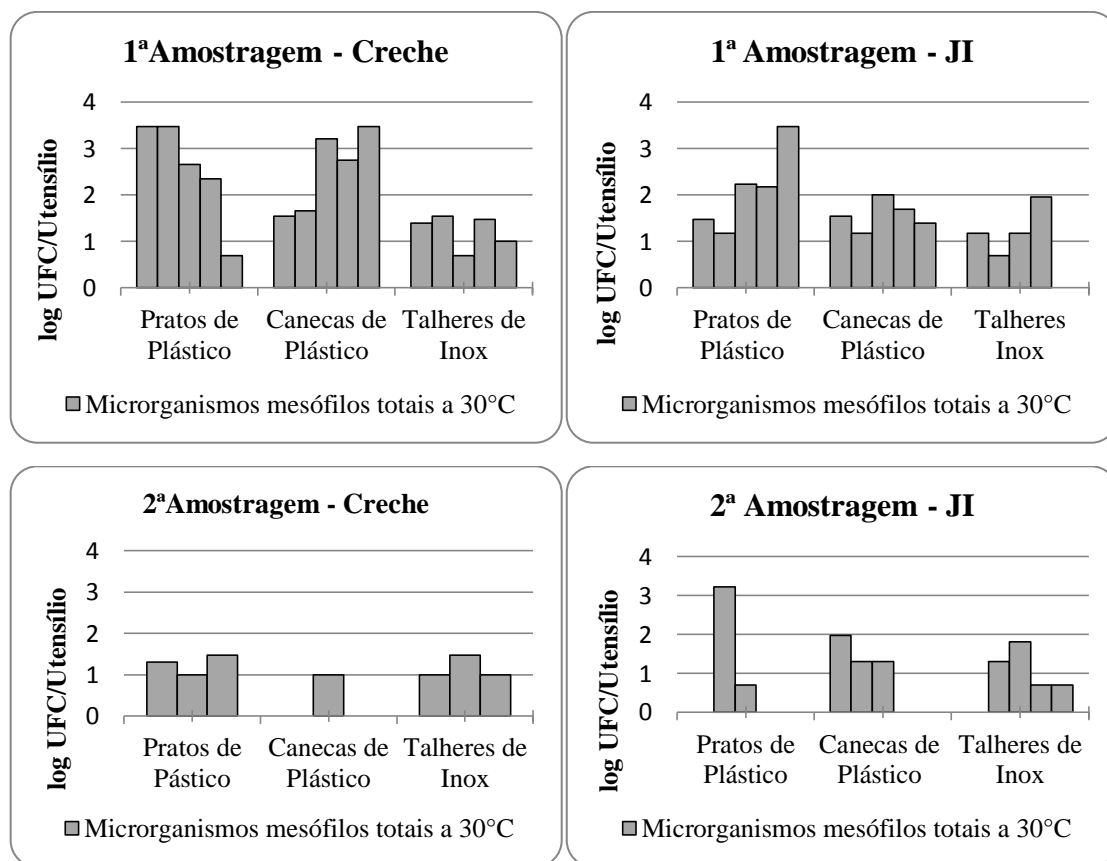
efectuados logo após a higienização (à saída da máquina), havendo portanto uma manipulação mínima.

Apesar das manipuladoras de ambas as instituições de ensino terem tido formação em termos de higiene e segurança alimentar, os resultados demonstram que a aquisição de conhecimentos nem sempre conduz à utilização de boas práticas, havendo uma necessidade de desenvolver métodos de formação onde se promova tanto a mudança de comportamento como a transmissão de conhecimentos (Egan *et al*, 2007).

Num questionário efectuado por Walker *et.al*, 2002, onde participaram 444 manipuladores de pequenos estabelecimentos de alimentos situados no Reino Unido, foi evidenciado que apesar de cerca de metade dos trabalhadores (55%) possuírem formação em higiene alimentar, apenas 36% dos estabelecimentos tinham mecanismos para actualização dos conhecimentos em termos de higiene alimentar. Tal constatação torna plausível a associação entre a falta de uma formação contínua e o défice de conhecimento relativamente à higiene considerado necessário para uma segura produção de alimentos. Salientando-se o facto que da totalidade dos manipuladores cujos conhecimentos sobre higiene foram avaliados, verificou-se que aproximadamente cerca de 20% não sabia higienizar adequadamente uma superfície de trabalho, dado acharem que o uso de detergentes, escovagem ou água quente eram os melhores métodos de eliminar bactérias. Mitchell, Fraser e Bearon (2007) referem que as instruções de trabalho iniciais conjuntamente com o treino de segurança alimentar, equipamentos e espaço apropriados, manuais de procedimentos de segurança alimentar, equipamento e espaço de trabalho adequados são factores favoráveis para ajudar uma manipulação segura.

A distribuição da carga microbiana por utensílio avaliado está representada na figura XII. Como foi já referenciado, a 1ª amostragem apresenta um nível de contaminação maior e foram os materiais de plástico que apresentaram níveis de contaminação superiores. O que está de acordo com o estudo efectuado por Sigua *et al*. (2011) que estudou a eficácia de vários desinfectantes químicos na redução de bactérias em utensílios alimentares usados em restaurantes, tendo sido verificadas diferenças na eficácia de higienização face aos vários tipos de materiais, identificando os utensílios de plástico como os que abrigaram uma maior carga microbiana, seguidos dos de cerâmica e vidro. Tendo ainda sido

concluído que os utensílios de plástico requerem um maior número de ciclos de lavagem para obtenção dos mesmos resultados comparativamente com os outros materiais.



Figuras XII - Contagem de microrganismos mesófilos totais a 30°C por utensílio a) 1ª amostragem na creche; b) 1ª amostragem no JI; c) 2ª amostragem na creche e d) 2ª amostragem no JI

Relativamente aos utensílios constituídos por aço inoxidável salienta-se que o JI (figura XII- b) e d)) apresentou resultados mais próximos do valor de referência, com carga microbiana perto de 2 log UFC/peça. Estes valores revelaram ser superiores nas colheres que apresentavam fissuras visíveis e em garfos cuja higienização poderá ser mais dificultada devido à sua configuração, nomeadamente entre os dentes. Poderá estar associado também ao facto do próprio aço inoxidável que em condições normais é resistente à corrosão pode deixar de o ser, caso a película protectora de óxido de cromo que se encontra na superfície seja permanentemente danificada por acção de um material

abrasivo ou de um produto químico com características cáusticas, tornando dificultado o processo de limpeza e desinfecção (Noronha, n.d.).

O facto das canecas de plástico da creche apresentaram piores resultados em relação às do JI (figura XII – a) e b)) associa-se provavelmente à rugosidade que apresentam, bem como à antiguidade. Para uma amostra o resultado verificado no JI apresentou um n.º de microrganismos mesófilos totais de 95 UFC/utensílio (figura XII - d)). Neste estabelecimento foi constatado que as canecas eram secas com toalhas de felpo. Resultados obtidos no estudo onde foi comparada a eficácia de vários agentes de limpeza químicos utilizados em operações de higienização efectuadas em restaurantes, evidenciaram que os utensílios de plástico foram mais difíceis de higienizar, em parte devido ao desgaste e rugosidade, comparativamente com os utensílios de vidro ou cerâmica, dado que com o decorrer do uso são formadas fendas nos materiais plásticos que albergam e funcionam como escudo protector contra a acção de biocidas presentes nas soluções de desinfecção (Sigua *et al.*, 2011).

Salienta-se ainda que os piores resultados observados na segunda amostragem efectuada na creche (figura XII – d)) encontram-se associados a pratos, canecas e talheres que tinham sido secos com recurso a toalhas de felpo, cujas características como a retenção de humidade e resíduos poderão potenciar o crescimento de microrganismos e consequente contaminação da loiça e utensílios com os quais entram em contacto.

Para além da contaminação bacteriana foi possível também constatar a presença de fungos na análise das amostragens aos utensílios, o que poderá estar associado ao facto da loiça poder ser guardada ainda húmida ou existirem condições de armazenagem menos próprias. Num estudo efectuado para avaliação da actividade antibacteriana do triclosan em tábuas de corte verificou-se que a secagem depois da higienização é um factor importante para a redução do número de microrganismos (Pinheiro *et al.*, 2010).

Os resultados da identificação provável de grupos da flora bacteriana presentes nas duas amostragens efectuadas a partir de esfregaços e enriquecimento em água peptonada dos utensílios alimentares, relativos a cada estabelecimento de ensino, encontram-se expressos nas tabelas X e XI.

Tabela X – Isolados bacterianos aos utensílios

	Identificação Microbiana	
Creche	Copos de plástico	<i>Acinetobacter sp.</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Neisseria sp.</i> <i>Moraxella sp</i>
	Pratos de plástico	<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Acinetobacter sp.</i> <i>Micrococcus sp.</i> <i>Kingella sp.</i>
JJ	Pratos de plástico	<i>Staphylococcus sp.</i>

Tabela XI – Isolados bacterianos após enriquecimento dos utensílios

	Identificação Microbiana	
Creche	Canecas de plástico	<i>Arcanobacterium spp</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Streptococcus</i>
	Talheres de Inox	<i>Staphylococcus sp.</i>
JJ	Canecas de plástico	<i>Kingella spp.</i> <i>Micrococcus sp</i>
	Talheres de Inox	<i>Micrococcus sp</i> <i>Staphylococcus sp.</i>
		<i>Enterobacterioaceae</i>

Em termos qualitativos na flora microbiana presente nos utensílios de plástico das escolas encontram-se géneros pertencentes a famílias *Neisseriaceae*, como é o caso da *Moraxella*, *Neisseria* e *Kingella* que constituem cocos Gram negativos geralmente associados ao tracto respiratório superior, nomeadamente orofaringe e nasofaringe, podendo ainda ser comensais ou patogénicos anogenitais. Relativamente à família *Enterobacteriaceae*, que foi detectada nos utensílios de plástico e inox após enriquecimento em água peptonada (tabela XI), inclui uma grande variedade de bacilos Gram negativos, em que parte deles têm por habitat o tracto intestinal do homem e outros animais, sendo a sua presença considerada um indicador de contaminação fecal directa ou indirecta, com potencial presença de patogénicos intestinais.

Verificou-se ainda a presença de cocos Gram positivos em ambos os isolados bacterianos, como é o caso do *Staphylococcus* que está associado à pele e membranas mucosas dos manipuladores, podendo estes ser transmitidos através de portadores sãos, no caso

específico da presença de *Staphylococcus aureus* na nasofaringe. Também os *Micrococcus* são agentes da população microbiana da pele, mucosa e orofaringe, podendo ainda encontra-se no ambiente via ar e poeiras, podendo também a sua presença nos utensílios estar associada a inadequadas condições de armazenagem. Em relação ao *Streptococcus*, este constitui um grupo diversificado que pode ser comensal da microflora da boca, da pele, do intestino e do tracto respiratório superior dos seres humanos ou ainda ser patogénico e invasor.

Uma pesquisa efectuada numa Unidade de Alimentação e Nutrição e que incluiu a avaliação das condições microbiológicas das mãos dos manipuladores relativamente à presença de *Staphylococcus aureus*, verificou que todos os manipuladores apresentavam contaminação por este microrganismo. Tendo-se também observado maiores contagens nos manipuladores de alimentos crus em relação aos que não têm contacto directo com estes alimentos, o que traduz um risco de contaminação cruzada directa nos alimentos ou através dos utensílios alimentares (Kochanski *et al.*, 2009).

Os microrganismos de género *Acinetobacter* isolados em utensílios de plástico quer através do método do esfregaço, como pelo enriquecimento em água peptonada, constituem bacilos Gram negativos, que também se apresentam como cocobacilos numa fase estacionária, podendo se desenvolver em superfícies e necessitam de poucas condições para o seu crescimento. Dado utilizarem uma larga variedade de fontes de carbono como substrato podem também sobreviver em locais secos como os utensílios alimentares e por possuírem um alto grau de hidrofobicidade apresentam a capacidade de aderir a utensílios plásticos (CGVS, n.d.). Relativamente ao *Arcanobacterium spp*, constitui um bacilo Gram positivo, que de acordo com o género a que pertence poderá ser comensal na pele humana e mucosas do tracto respiratório superior, assim como se encontrar nas mucosas de animais.

Vários estudos indicam alguns microrganismos cuja presença no processo de adesão de biofilmes na indústria alimentar pode gerar problemas de carácter económico ou de saúde pública, nomeadamente *Pseudomonas*, *Micrococcus sp.* e *Enterococcus faecium*, ou ainda alguns patogénicos como a *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (citado em Kasnowski, Mantilla, Oliveira & Franco, 2010).

A presença destes diferentes grupos de microrganismos encontra-se já referenciada na literatura, nomeadamente a sua presença em utensílios, tendo como origem os manipuladores de alimentos, bem como determinados factores ambientais (Jay *et al.*, 2005). Ferreira *et al.* (2010) as mãos, cavidade nasal, boca, tracto gastrointestinal e pele dos manipuladores de alimentos constituem uma das mais importantes fontes de contaminação, cujas microfloras se instalam nos alimentos devido a inadequadas práticas de higiene pessoal.

Relativamente ao observado nos resultados da análise efectuada à água de lavagem verifica-se a presença de enterococcus em n.º elevado na primeira amostragem efectuada na creche (Tabela XII), o que coincide com os valores de enterobactérias nos utensílios dessa escola obtidos por esfregaço, salientando-se o facto dessa água de enxaguamento corresponder à lavagem de tabuleiros em inox utilizados para a preparação da refeição. A inexistência de enterococcus nas águas de lavagem da segunda amostragem e a ausência de enterobactérias nos utensílios para essa mesma amostragem, poderá estar associada.

Tabela XII – Análise microbiológica da água de lavagem – 1ª amostragem

	Temperatura de Incubação	Resultado Microbiológico
Creche		Bactérias Mesófilas Aeróbias (UFC/ml)
	22°C	10
	37°C	10
		Enterococcus (UFC/100ml) >300(*)
JI		Bactérias Mesófilas Aeróbias (UFC/ml)
	22°C	0
	37°C	0
		Enterococcus (UFC/100ml) 0

* colónias típicas, catalase +

Tabela XIII – Análise microbiológica da água de lavagem – 2ª amostragem

	Temperatura de Incubação	Resultado Microbiológico
Creche		Bactérias Mesófilas Aeróbias (UFC/ml)
	22°C	2
	37°C	179
		Enterococcus (UFC/100ml)
		0
JI		Bactérias Mesófilas Aeróbias (UFC/ml)
	22°C	3
	37°C	0
		Enterococcus (UFC/100ml)
		0

Da análise global dos dados foi possível verificar que embora a creche já se encontrar a implementar o sistema HACCP, foi nesta instituição de ensino que foram encontrados utensílios com maiores níveis de contaminação, podendo estar associado a um pior estado de conservação devido a um uso mais prolongado, dada a maior antiguidade do serviço de loiça. Os resultados das contagens microbiológicas verificados, bem como a diferença observada entre as duas datas de amostragem e o tipo de isolados bacterianos detectados evidenciam que o estado higiénico insatisfatório verificado poderá estar associado a um conjunto de factores relacionados com o processo de higienização e com as etapas subsequentes como a secagem, manipulação e armazenagem. Destacando-se o facto de uma inadequada higienização de mãos ser considerado na literatura como uma das principais fontes de contaminação bacteriana de alimentos.

Oliveira, Brasil e Taddei (2008) verificaram, através de uma avaliação efectuada em cozinhas de creches de S. Paulo, que o factor limitante para a produção de alimentos seguros encontrava-se associado à figura do manipulador. O instrumento de avaliação utilizado enquadrou 62.5% dos manipuladores na categoria III de risco, em que < 40% dos itens avaliados se encontravam em adequação com os padrões higio-sanitários. A inadequação da higienização das mãos e dos equipamentos e utensílios correspondeu a 100% e 80%, respectivamente.

Um estudo realizado por Rego, Guerra e Pires (1997) em Unidades de Alimentação e Nutrição industriais, demonstrou que a formação contribui para a melhoria das condições

higio-sanitárias quer dos manipuladores como do próprio ambiente de trabalho. Sendo também evidenciada a importância da adopção de programas de formação contínua, por forma a comprometer os manipuladores nas mudanças de comportamento, o que implicará a reciclagem dos conteúdos no âmbito das actividades e experiências profissionais.

Salienta-se ainda o facto dos utensílios plásticos apresentarem em geral piores resultados de higienização em relação aos de inox, o que corresponde à escalonização efectuada por Rogers *et. al.* (1994), em que através de um *ranking* efectuado a materiais frequentemente utilizados na indústria alimentar, verificou que os que apresentam maior capacidade de suporte de crescimento de biofilme microbiano em geral e em particular no caso de *Legionella pneumophila*, aumentaram do vidro para o aço inox, polipropileno, PVC clorado, PVC não plastificado, aço carbono, polietileno, etileno-propileno até ao látex. O que reflecte que a utilização de loiças e utensílios para uso alimentar deverá ter em consideração as características próprias dos materiais, bem como o seu estado de conservação, por forma a garantir refeições seguras para as crianças que frequentam os estabelecimentos de ensino, nomeadamente no pré-escolar.

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

“A Escola, ao constituir-se como um espaço seguro e saudável, está a facilitar a adopção de comportamentos mais saudáveis, encontrando-se por isso numa posição ideal para promover e manter a saúde da comunidade educativa e da comunidade envolvente” (DGS, 2006a).

No âmbito do objectivo proposto de avaliar a qualidade higiénica dos utensílios alimentares foi possível verificar deficiências inerentes ao processo de higienização, com implicações directas na contaminação dos utensílios. Os resultados observados na avaliação efectuada ao processo de higienização de loiças e utensílios, em simultâneo com os dados obtidos através da avaliação microbiológica evidenciaram falhas com eventual repercussão na qualidade das refeições servidas nestes dois estabelecimentos de ensino.

Considerando que os biofilmes são difíceis de remover das superfícies alimentares devido à produção de materiais EPS e sabendo que os microrganismos que constituem biofilmes são mais resistentes a biocidas em consequência do desenvolvimento de adaptações, torna-se fundamental o controlo do biofilme através da implementação de procedimentos de limpeza e desinfecção eficazes e de um design que permita a remoção fácil e completa dos resíduos. Nesse sentido deverão ser adoptados planos de limpeza e desinfecção eficazes na prevenção e erradicação de biofilmes e onde seja previsto a sua monitorização através da utilização de métodos de validação de superfícies, nomeadamente neste tipo de utensílios que contactam directamente com os alimentos.

Face aos resultados obtidos em relação à presença de microrganismos nos utensílios originários da pele, boca, cavidade nasal e tracto gastrointestinal dos manipuladores de alimentos e por forma a reduzir significativamente os problemas identificados, revela-se fundamental um investimento direccionado para o cumprimento dos procedimentos de higiene e segurança por parte dos manipuladores de alimentos, através de um plano de formação contínua que para além da componente teórica se estenda também na prática das rotinas de trabalho. Assim, a implementação de boas práticas e princípios HACCP requer não só a existência de documentos, padrões e arquivos de controlo, mas também a sua

efectiva utilização e implementação nas operações de rotina, a fim de torná-los parte das actividades diárias.

Tendo ainda em conta que os biofilmes se podem acumular numa variedade de substratos, a concepção de loiças e utensílios deverá incluir também o elemento higiene em simultâneo com os aspectos inerentes à resistência térmica, mecânica e química, devendo os utensílios alimentares ser constituídos por materiais cujas características dificultem o processo de adesão. Salienta-se ainda o facto das suas superfícies deverem ser lisas e encontrarem-se em bom estado de conservação, dado que o desgaste aumenta progressivamente com o uso, o que traduz um aumento da população microbiana. Assim, caso se verifique a utilização de utensílios de plástico, ressalva-se a importância da sua substituição periódica, uma vez que os excessivos cortes e fissuras constituem meios óptimos para albergar microrganismos.

A definição legislativa de padrões de controlo da qualidade higio-sanitária dos utensílios e equipamentos usados na área alimentar; a pesquisa na área química sobre a eficácia de agentes de limpeza e desinfectantes; ou na área biológica como os factores envolvidos na fixação e formação de biofilmes ou a diminuição da sensibilidade das bactérias do biofilme a desinfectantes, constituem estratégias que poderão ser desenvolvidas no âmbito do fornecimento de refeições colectivas seguras, nomeadamente em meio escolar.

Dadas as limitações do estudo, nomeadamente no que diz respeito à avaliação microbiológica, fruto da restrição temporal no que se refere à execução das amostragens, considera-se que os resultados não se mostraram tão expressivos como o que era esperado, pelo que seria pertinente dar continuidade ao mesmo no âmbito de verificar se mantém o mesmo padrão de resultados. Considera-se ainda que constitui um pequeno estudo piloto que poderá resultar numa fonte de informação para a tomada de decisões, por forma a promover a segurança alimentar, por parte das instituições de ensino pré-escolar.

O presente trabalho pretendeu evidenciar a importância da higienização dos utensílios alimentares, bem como as do próprio manipulador por forma a garantir uma oferta alimentar com qualidade microbiológica, segura e sem risco para os utilizadores das cantinas.

Como trabalho futuro sugere-se a análise do biofilme presente na superfície dos utensílios alimentares, após ensaios de eficácia de remoção do mesmo por agentes físicos e químicos. Sugere-se ainda o estudo sobre a formação e permanência de biofilme em materiais utilizados em contacto com alimentos contendo na composição agentes com efeito bacteriostático.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Food microbiology*. Cambridge: RSC Publishing.
- Andrade, N. J. & Macêdo, J.A. (1996). *Higienização na indústria de alimentos*. São Paulo - Varela.
- Andrade, N. J., Silva, R.M. & Brabes, K.C. (2003). Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. *Cienc. Agrotec., Lavras*, 27(3), 590-596.
- Atlas, R. M. (1997). *Principles of microbiology*. Mc Graw: Hill.
- Baptista, P. & Linhares, M. (2005). *Higiene e segurança alimentar na restauração – Volume I -Iniciação: Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Lda*
- Baptista, P. (2003). *Higienização de equipamentos e instalações na indústria agro-alimentar: Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Lda.*
- Baptista, P. & Saraiva, J. (2003). *Higiene pessoal na indústria alimentar: Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Lda*
- Barros, M.O., Lameiras, J. & Rocha, A. (2008). Espaços de refeição de estabelecimentos de educação do Município de Penafiel – Características hígio-sanitárias, *Alimentação Humana – Revista da SPCNA*, 2, 66-73.
- Blume, S.I & Ribeiro, G.A. (2006). *Qualidade sanitária de talheres e pratos utilizados no restaurante-escola da Universidade Federal de Pelotas*. Recuperado em 9 Setembro, 2011, da Universidade Federal de Pelotas, Ministério da Educação do Governo Brasileiro Web site: <http://www.ufpel.edu.br/>
- Borges, J.G., Mendonça, K.S. & Batista, L.R. (n.d.). *Qualidade higiênico-sanitária de alimentos oferecidos em escolas públicas do município de Lavras*. Recuperado em 22 Junho, 2011, da Universidade Federal de Lavras Web site: <http://www.proec.ufla.br/conex/ivconex/arquivos/trabalhos1.html>
- Borges, L. F., Silva, B. L., & Gontijo Filho, P. P. (2007). Hand washing: Changes in the skin flora. *American Journal of Infection Control*, 35(6), 417– 420.
- Boulangue-Peterman, L., Barroux, B., Bellon-Fontaine, M. N. (1993). The influence of metallic wettability on bacterial adhesion. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 7, 221-230.
- Bower, C.K., McGuire, J. & Daeschel, M.A. (1996). The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 152-157.
- Bryers, J.D. (1987). Biologically active surfaces: processes governing the formation and persistence of biofilms. *Biotechnology Progress*, 3, 57-68.
- Carpentier, B. & Cerf, O. (1993). Biofilm and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75, 499-511.
- CGVS (n.d.). *Manual de Orientação para Controle da Disseminação de Acinetobacter sp.* Brasil, Porto Alegre: Coordenadoria Geral da Vigilância em Saúde.
- Chae, M.S., Schraft, H. (2001). Cell viability of *Listeria monocytogenes* biofilms. *Food Microbiology*, 18, 103-112.
- Chmielewski, R. A. & Frank J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 22-32.
- Christie, A. B., & Christie, M. C. (1973). *Higiene alimentar e riscos da alimentação: Lopes da Silva - Editora.*
- Colombo, M., Oliveira, K.M. & Silva, D.L. (2009). Conhecimento das merendeiras de Santa Fé, PR, sobre higiene e boas práticas de fabricação na produção de alimentos. *Higiene Alimentar*, 3, 39-46.
- Costerton, J.W., Ellis, B., Lam, K., Johnson, F. & Khoury, A.E. (1994). Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother*, 38, 2803 –2809.
- Davey, M.E., O’Toole, G.A. (2000). *Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64, 847-867.
- Decreto-Lei n.º 109/2000 de 30 de Junho. *Diário da República n.º 149/2000 – I Série*. Ministério do Trabalho e da Solidariedade. Lisboa.
- Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto. *Diário da República n.º 164/2007 – I Série*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Lisboa.
- DGI (2007). *Refeitórios Escolares e Normas Gerais de Alimentação*. Circular Normativa n.º 14/DGIDC. Lisboa, Portugal:Ministério da Educação
- DGS (2006a). *Programa Nacional de Saúde Escolar*. Circular Normativa n.º 7/DSE . Lisboa, Portugal: Direcção Geral da Saúde.
- DGS (2006b). *Programa Nacional de Saúde Escolar*. Circular Normativa n.º 12/DSE . Lisboa, Portugal: Direcção Geral da Saúde.

- Dong, B.Y., Manolache, S., Somers, E.B., Wong, A.C.L. & Denes, F.S. (2005). Generation of antifouling layers on stainless steel surfaces by plasma-enhanced crosslinking of polyethylene glycol. *Journal of Applied Polymer Science Symposium* 97, 485–497.
- Doyle, M. P., Beuchat, L. R., & Montville, T. J. (2001). *Food microbiology - Fundamentals and frontiers* (2^a ed.). Washington D.C.: American Society for Microbiology.
- EFSA (2011). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *The EFSA Journal*, 9(3): 1-378.
- Egan, M. B., Raats, M. M., Grubb, S. M., Eves, A., Lumbers, M. L., Dean, M. S., et al. (2007). A review of food safety and food hygiene training studies in the commercial sector. *Food Control*, 18, 1180–1190.
- EU-RAIN (2003). Catering food safety – a responsibility ignored?. Conference Report. Budapest: EU-RAIN.
- Evans, D.J., Allison, D.G., Brown, M.R. & Gilbert, P. (1991). Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms towards ciprofloxacin: effect of specific growth rate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27, 177–184.
- Griffith, C. Worsfold, D. & Mitchell, R. (1998). Food preparation, risk communication and the consumer. *Food Control*, 9, 225-232.
- Fernandes, A., Silva, M.V. & Freitas, V. (2010). Avaliação da qualidade de óleos de fritura em estabelecimentos de restauração. In Almeida, J., Ferreira, A., Paixão, S., Pinto, M.V., Sá, N.L., Santos, C. & Simões, H. (Eds.), *Congresso Internacional de Saúde Ambiental*. Coimbra: Departamento de Saúde Ambiental – ESTSC. Actas do Congresso Internacional de Saúde Ambiental, Coimbra, 2011, pp. 71-79.
- Ferreira, W. F., Sousa, J. C., & Lima, N. (2010). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel.
- Forsythe, S. J. (2002). *Microbiologia da segurança alimentar*. Portalegre: Artmed.
- Freitas, L. H. (1995). *Sistema especialista para diagnóstico de toxinfecções alimentares de origem bacteriana*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil.
- Gaman, P. M., & Sherrington, K. B. (1996). *The science of food* (4^a ed.). Oxford: Elsevier.
- Garbutt, J. (1997). *Essentials of food microbiology*. London: Arnold.
- Ghigo, J.M. (2001). Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*, 412, 442–445.
- Gibson, H., Taylor, J.H., Hall, K.E. & Holah, J.T. (1999). Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 41–8.
- Giese, J. (1991). Sanitation: the key to food safety and public health. *Food Technology*, 45(12):74-80.
- Gomes, E., Araújo, A. C., Ramos, E., & Cardoso, C. S. (2007). Food handling: Comparative analysis of general knowledge and practice in three relevant groups in Portugal. *Food Control*, 18, 707–712.
- Guerra, N.P., Araújo, A.B., Barrera, A.M., Agrasar, A.T., Macias, C.L., Carballo, J. & Pastrana, L. (2005) Antimicrobial activity of nisin adsorbed to surfaces commonly used in the food industry. *Journal of Food Protection*, 68, 1012–1019.
- Holah, J.T. & Thorpe, R.H. (1990) Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic sink materials. *Journal of Applied Microbiology*, 69, 599–608.
- Hood, S.K. & Zottola, E.A. (1997). Isolation and identification of adherent gram- negative microorganisms from four meat processing facilities. *Journal of Food Protection*, 60, 1135-8.
- Houdt, R. V. & Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 1117-1131.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology* (7^a ed.). New York: Springer.
- Jones, C.R., Adams, M.R., Zhdan, P.A. & Chamberlain, A.H.L. (1999). The role of surface physicochemical properties in determining the distribution of the autochthonous microflora in mineral water bottles. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 917-927.
- Kasnowski, M.C., Mantilla, S.P., Oliveira, L.A. & Franco, R.M. (2010). Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 15.
- Kim, K.Y. & Frank, J.F. (1995). Effect of nutrients on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel. *Journal of Food Protection*, 58:24-28.
- Kochanski, S., Pierozan, M.K., Mossi, A.J., Treichel, H., Cansian, R.L., Ghisleni, C.P., et al. (2009). Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. *Alimentação e Nutrição*, 20, 663-668.
- Kumar, C.G. & Anand, S.K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 42, 9-27.
- Krysinski, E.P., Brown, L.J. & Marchisello, T.J. (1992). Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces. *Journal of Food Protection*, 55, 246-251.
- Lacasse, D. (1995). *Introdução à microbiologia alimentar*. Lisboa: Instituto Piaget.

- Legnani, P., Leoni, E., Berveglieri, M., Mirolo, G. & Álvaro, N. (2004). Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*, 15, 205–211.
- Lightfoot, N. F. & Maier, E. A. (2003). *Análise microbiológica de alimentos e água - Guia para a garantia da qualidade*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Marques, S.C., Rezende, J.G., Alves, L.A., Silva, B.C., Alves, E., Abreu, L. R. & Piccoli, R.H. (2007). Formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 538-543.
- McDonnell, G. & Russell, A.D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews* 12(1):147-79.
- McEldowney, S. & Fletcher, M. (1987). Adhesion of bacteria from mixed cell suspension to solid surfaces. *Arch Microbiol*, 148,57-62.
- McLean, R.J.C., Whiteley, M., Stickler, D. & Fuqua, W.C. (1997). Evidence of autoinducer activity in naturally occurring biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 154, 259-263.
- Mello, A.G., Gama, M.P., Marin, V.A. & Colares, L.G. (2010). Conhecimento dos manipuladores de alimentos sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do estado do Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Food Tecnology*, 13, 60-68.
- Meyer, B. (2003). Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 249-253.
- Mitchell, R. E., Fraser, A. M. & Bearon, L. B. (2007). Preventing food-borne illness in food service establishments: Broadening the framework for intervention and research on safe food handling behaviors. *International Journal of Environmental Health Research*, 17, 9–24.
- Mittelman, M.W. (1998). Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. *Journal of Dairy Science*, 81, 2760-4.
- Moretro, T., Vestby, L.K., Nesse, L.L., Storheim, S.E., Kotlarz, K. & Langsrud, S. (2009) Evaluation of efficacy of disinfectants against Salmonella from the feed industry. *Journal of Applied Microbiology*, 106, 1005–1012.
- Moretro, T., Hoiby-Pettersen, G., Habimana, O., Heir, E. & Langsrud, S. (2011). Assessment of the antibacterial activity of a triclosan-containing cutting board. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 157-162.
- Mortimore, S., & Wallace, C. (2001). *HACCP: Food Industry Briefing Series*.
- Niemira, B.A. & Solomon, E.B. (2005). Sensitivity of planktonic and biofilm-associated *Salmonella spp.* to ionizing radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2732–2736.
- Noronha, J. (n.d.). *Manual de higienização da indústria alimentar*. Acedido em Jun. 18, 2011, disponível em: http://www.esac.pt/noronha/manuais/Manual_higienizao_aesbuc.pdf
- Oliveira, M.N., Brasil, A.L. & Taddei, J.A. (2008). Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13, 1051-1060.
- OMS (2007), “Fact sheet N°237: Food safety and foodborne illness”, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> (consultada em 14-07-2011).
- OMS/FAO (2003). *Codex alimentarius: código de práticas internacionais recomendadas - princípios gerais de higiene alimentar*. World Health Organization/Food and Agriculture Organization. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003. Rome: Codex Alimentarius Commission.
- O'Toole, G., Kaplan, H.B. & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, 54, 49-79.
- Oulahal-Lagsir, O., Martial-Gros, A., Bonneau, M. & Blum, L.J. (2003) “Escherichia coli-milk” biofilm removal from stainless steel surfaces: synergism between ultrasonic waves and enzymes. *Biofouling*, 19, 159–168.
- Pfund, R. (2004). Avoiding the hiddenhandwashing hazard. *Plumbing Engineer*,41-42.
- Pinheiro, M. B., Wada, T. C., Pereira, C. A. (2010). Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos. *Simbio-Logias*, 5, 115-124.
- Pinto, J., & Neves, R. (2010). *Análise de riscos no processamento alimentar - HACCP*: Publindústria.
- Pragle, A. S., Harding, A. K. & Mack, J. C. (2007). Food workers’ perspectives on hand washing behaviors and barriers in the restaurant environment. *Journal of Environmental Health*, 69(10), 27–32.
- Qi, X., Poernomo, G., Wang, K., Chen, Y., Chan-Park, M. B., Xu, R. & Chang, M. W. (2011). Covalent immobilization of nisin on multi-walled carbon nanotubes: superior antimicrobial and anti-biofilm properties. *Nanoscale*, 3, 1874-1880.
- Rego, J. C., Guerra, N. B. & Pires, E. F. (1997). Influência do treinamento no controle higiênico-sanitário de Unidades de Alimentação e Nutrição. *Revista Nutrição PUCAMP*, 50-62.
- Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar. *Jornal Oficial da União Europeia L 031*. Comissão Europeia. Estrasburgo.

- Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril, relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia L226/3*. Comissão Europeia. Estrasburgo.
- Regulamento (CE) n.º 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 27 de Outubro, relativo aos materiais e objectos destinados a entrar em contacto com os alimentos. *Jornal Oficial da União Europeia L338*. Comissão Europeia. Estrasburgo.
- Rogers, J., Dowsett, A.B., Dennis, P.J., Lee, J.V. & Keevil, C.W. (1994) Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1585–1592.
- Rossi, C. F. (2006). *Condições higiénico-sanitárias de restaurantes comerciais do tipo self-service de Belo Horizonte*. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.
- Sailer, F.C., Meberg, B.M. & Young, K.D. (2003) Beta-Lactam induction of colanic acid gene expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, 226, 245–249.
- Sangole, S. S., Lanjewar, A. G., & Zodpey, S. P. (2002). Personal hygiene and its association with some factors in food handlers. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 6(2), 71–74.
- Santos, M.J.O., NOGUEIRA, J.M.R., MAYAN, O. (2007). Condições higio-sanitárias das cantinas escolares do distrito de Vila Real, *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, 25, 51-58.
- Sigua, G., Lee, Y., Lee, J., Lee, K., Hipp, J. & Pascall, M.A. (2011). Comparative efficacies of various chemical sanitizers for warewashing operations in restaurants. *Food Control*, 22, 13-19.
- Schmidt, R.H. (2003). Basic elements of equipment cleaning and sanitizing in food processing and handling operations. In *Information Sheet FS14* (pp. 1-12). University of Florida Extension: Institute of Food and Agricultural Sciences
- Smoot, L.M. & Pierson, M.D. (1998). Effect of environmental stress on the ability of *Listeria monocytogenes* Scott A to attach to food contact surfaces. *Journal of Food Protection*, 61, 1293-8.
- Sousa, J. P., Franco, M. H., Rodrigues, M. A., Santos, M. & Reis, S. (2001). *Riscos dos agentes biológicos*. Lisboa: IDICT.
- Sprengrer, R. A. (2008). *Higiene for management*. Reino Unido: Highfield Publications.
- Sutherland, I.W. (1983). Microbial exopolysaccharides - Their role in microbial adhesion in aqueous systems. *Critical Reviews in Microbiology*, 10(2).
- Vatanyoopaisarn, S., Nazli, A., Dodd, C.E., Rees, C.E. & Waites, W.M. (2000). Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 860–863.
- Veiros, M.B., Proença, R. P., Santos, M. C., Kent-Smith, L. & Rocha, A. (2009). Food safety in a portuguese canteen. *Food Control*, 20, 936-941.
- Walker, E. & Jones, N. (2002). An assessment of the value of documenting food safety in small and less developed catering businesses. *Food Control*, 13, 307-314.
- Walker, E., Pritchard, C. & Forsythe, S. (2003). Food handlers' hygiene knowledge in small food businesses. *Food Control*, 14, 339-343.
- Wernersson, E. S., Hakanson, H., Lindvall, I., & Tragardh, C. (2003). Hygiene in warewashers utilizing blasting granules that foodservice establishments use. *Food Protection Trends*, 23, 797-807.
- Wimpenny, J., Manz, W. & Szewzyk, U. (2000). Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiology Reviews*, 24, 661-671.
- Zottola, E.A. & Sasahara, K.C. (1994). Microbial biofilms in the food processing industry – should they be a concern? *International Journal of Food Microbiology*, 23, 125–148.

ANEXOS

ANEXO I

CHECKLIST DE AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE HIGIENIZAÇÃO DE LOIÇAS E UTENSÍLIOS

NOME DA ESCOLA		TIPOLOGIA	
MORADA		C. POSTAL	
E-MAIL		TELEFONE	

1 – CONDIÇÕES GERAIS DE INSTALAÇÃO E FUNCIONAMENTO	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
1.1 – Adequado estado geral de limpeza e conservação (pavimento, paredes, tecto)?			
1.2 - Revestimentos das paredes, tectos e pavimentos lisos, de fácil limpeza e desinfecção?			
1.3 – Pavimentos com ralos de escoamento e drenagem adequada?			
1.4 – Área adequada e suficientemente equipada?			
1.5 – Existência de copa suja e copa limpa devidamente separadas?			
1.6 – Ventilação adequada e directa para o exterior?			
1.7 – Existência de lavatório de serviço para higienização das mãos equipado com comando não manual?			
1.8 - O lavatório de serviço encontra-se equipado com dispositivo de sabão líquido apropriado para a lavagem das mãos?			
1.9 – O lavatório de serviço encontra-se equipado com líquido bactericida para a desinfecção das mãos?			
1.10 – O lavatório de serviço encontra-se equipado com dispositivo de toalhetes individuais para secagem de mãos?			
1.11 – Existência de recipientes para o lixo dotados de tampa accionada por pedal?			
1.12 - Existência de redes mosquiteiras e electrocutor de insectos?			
1.13 – Existência de contrato com empresa para controlo de pragas? Se sim, qual a data da última desinfestação? Qual a periodicidade?			
1.14 – Existência de plano de higienização afixado?			
1.15 – Possuem registos de controlo e monitorização dos procedimentos de higienização? Se sim, quais?			
1.16 – Encontram-se implementados o sistema HACCP e as Boas Práticas?			
2 – LOIÇA/UTENSÍLIOS	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
2.1 – Na linha de serviço de refeições são utilizadas loiças/utensílios de plástico? Se sim, quais?			
2.2 – Na linha de serviço de refeições são utilizadas loiças/utensílios de vidro? Se sim, quais?			
2.3 – Na linha de serviço de refeições são utilizadas loiças/utensílios de inox? Se sim, quais?			
2.4 – Os materiais são adequados para o uso agro-alimentar (ver simbologia)?			

Higienização de Utensílios Alimentares em Estabelecimentos do Ensino Pré-Escolar

2.5 – Existe indicação do ano de aquisição dos diferentes tipos de loiça/utensílios? Se sim, qual?			
2.6 – Loiça/utensílios em adequado estado de conservação (sem fissuras, lascas,...)?			
3 – PRÉ-LAVAGEM MANUAL	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
3.1 – É efectuada uma pré-lavagem manual?			
3.2 – É utilizado detergente? Se sim, qual?			
3.3 – É utilizado agente desinfectante? Se sim, qual?			
3.4 – É efectuada com água quente? Se sim qual a temperatura da água?			
3.5 – É efectuada com auxílio de alguns utensílios de lavagem? Se sim, quais?			
4 – LAVAGEM/DESINFECÇÃO	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
4.1 – É utilizada máquina para a lavagem/desinfecção da loiça/utensílios?			
4.2 – Qual a marca do equipamento utilizado?			
4.3 – Qual a taxa de ocupação utilizada?			
4.4 – O posicionamento da loiça/utensílios dentro do equipamento é adequado?			
4.5 – Utilização de água controlada em termos físico-químicos e bacteriológicos? Qual a sua origem?			
4.6 – Qual a classificação da água em termos de dureza?			
4.7 – Qual a gama de temperaturas de lavagem utilizadas nos programas do equipamento?			
4.8 – Qual o tempo de lavagem/desinfecção utilizado?			
4.9 – É efectuada inspecção regular ao equipamento por técnicos especializados? Se sim qual a data da última vistoria? Qual a periodicidade?			
4.10 – É efectuada uma limpeza/manutenção regular da máquina? Se sim qual a data? Qual a periodicidade?			
5 – DETERGENTES/DESINFETANTES	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
5.1 - Qual o tipo de detergente utilizado?			
5.2 – É utilizado agente desinfectante?			
5.3 – Os produtos de lavagem/desinfecção são apropriados para uma utilização agro-alimentar?			
5.4 – Existem fichas técnicas para os produtos utilizados?			
5.5 - É utilizada a quantidade indicada na ficha técnica dos produtos?			
5.6 – É efectuada a diluição indicada na ficha técnica dos produtos?			
5.7 – Os produtos utilizados encontram-se dentro da data de utilização?			
5.8–As condições de armazenagem dos produtos de limpeza/desinfecção são adequadas (local ventilado, ao abrigo da luz, embalagens integras e fechadas)?			

Higienização de Utensílios Alimentares em Estabelecimentos do Ensino Pré-Escolar

6 – SECAGEM	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
6.1 – A loiça/ utensílios saem secos ao ser retirados do equipamento?			
6.2 – São utilizados meios para secagem da loiça/utensílios? Se sim quais?			
6.3 – A loiça/utensílios são colocados ao “ar livre”? Se sim qual o tempo de espera?			
7 – ARMAZENAGEM	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
7.1 – A loiça/utensílios são colocados em local de armazenagem fechado? Se não, qual o local?			
7.2 – O local de armazenagem da loiça/utensílios encontra-se em boas condições de higiene e conservação?			
7.3 – Qual o tempo médio de armazenagem?			
8 - MANIPULADORES	SIM	NÃO	OBSERVAÇÕES
8.1 – Todos possuem formação em boas práticas/procedimentos de higiene? Se não, quantos?			
8.2 – Todos efectuam vigilância regular das condições de saúde? Se não, quantos?			
8.3 – Todos utilizam vestuário de protecção adequado? Se não, quantos?			
8.4 – Verifica-se a não utilização de adornos (anéis, brincos,...) por parte de todos? Se sim, quantos?			
8.5 – Todos apresentam o cabelo adequadamente protegido? Se não, quantos?			
8.6 – Todos apresentam as mãos com unhas curtas, sem verniz, sem fissuras, feridas ou cortes desprotegidos? Se não, quantos?			
LAY-OUT			

ANEXO II

FOLHA DE CAMPO

Código do Estabelecimento de Ensino:		Observações
Data da Colheita		
Hora da Colheita		
Hora Refeição		
Hora Início da Lavagem		
Nº Esfregaços Pratos Plástico		
Nº Esfregaços Copos Plástico		
Nº Esfregaços Talheres Inox		
Nº Recolha Utensílio: Copo Plástico		
Nº Recolha Utensílio: Talher Inox		
Nº Recolha Água Máquina Lavagem		
Modo de Secagem da Loiça		