

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Boas Práticas em Serviços de Alimentação de escolas públicas e condições
higienicossanitárias das mãos dos manipuladores**

Jéssica Silveira Vitoria

Pelotas, 2017

Jéssica Silveira Vitoria

Boas Práticas em Serviços de Alimentação de escolas públicas e condições higienicossanitárias das mãos dos manipuladores

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kelly Lameiro Rodrigues
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Jozi Fagundes de Mello

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

V845b Vitoria, Jéssica Silveira

Boas práticas em serviços de alimentação de escolas públicas e condições higienicossanitárias das mãos dos manipuladores / Jéssica Silveira Vitoria ; Kelly Lameiro Rodrigues, orientadora ; Jozi Fagundes de Mello, coorientadora. — Pelotas, 2017.

104 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Alimentação escolar. 2. Multiplex pcr. 3. Análise microbiológica. 4. Enterotoxina estafilocócica. 5. Boas práticas de manipulação. I. Rodrigues, Kelly Lameiro, orient. II. Mello, Jozi Fagundes de, coorient. III. Título.

CDD : 641.1

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Kelly Lameiro Rodrigues
(Universidade Federal de Pelotas – UFPel)
(Presidente)

Prof^a. Dr^a Jozi Fagundes de Mello - UFPel
(Universidade Federal de Pelotas – UFPel)
(Titular)

Prof^a Dr^a Natacha Deboni Cereser
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)
(Titular)

Prof^a Dr^a Márcia Rúbia Duarte Buchweitz
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)
(Titular)

Prof^a Dr^a Ludmila Correa Muniz
(Universidade Federal de Pelotas - UFPel)
(Suplente)

Resumo Geral

VITORIA, Jéssica Silveira. **Boas Práticas em Serviços de Alimentação de escolas públicas e condições higienicossanitárias das mãos dos manipuladores.** 2017. 104f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

A alimentação escolar deve ofertar alimentos seguros quanto à sua condição higienicossanitária buscando a proteção e promoção da saúde dos escolares. O objetivo deste estudo foi avaliar as condições higienicossanitárias de escolas municipais da cidade de Pelotas - RS por meio da aplicação de uma lista de verificação e de análises microbiológicas do ar ambiental, da superfície de manipulação de alimentos, da água, de preparações alimentícias e das mãos de manipuladores de alimentos. Além disso verificou-se a presença de genes produtores de enterotoxinas estafilocócicas clássicas (A, B, C, D e E) nos isolados de *Staphylococcus* spp. Foram realizadas visitas em 15 escolas municipais com aplicação da lista de verificação e coleta das amostras para as análises microbiológicas. Realizaram-se contagens de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras nas amostras de ar ambiental, contagens de coliformes termotolerantes e bactérias aeróbias mesófilas em amostras de superfícies de manipulação e contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água. Nas mãos dos manipuladores foram realizadas análises de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp. Nas preparações alimentícias foram realizadas análises de coliformes termotolerantes, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp. Os isolados de *Staphylococcus* spp. foram submetidos à técnica de reação em cadeia da polimerase multiplex a fim de verificar a presença dos genes codificadores de enterotoxinas estafilocócicas clássicas. Os resultados obtidos a partir da lista de verificação apontaram alto percentual de não conformidades, sendo que duas das 15 escolas apresentaram "grau de risco sanitário alto" e todas as outras foram classificadas como "situação de risco sanitário regular". Em relação às análises microbiológicas, a qualidade do ar ambiental foi satisfatória em todas as escolas avaliadas. Entretanto, foram encontradas contagens acima do permitido para bactérias aeróbias mesófilas em superfícies de manipulação de alimentos e coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água. As mãos dos manipuladores e as preparações alimentícias apresentaram contagens acima do recomendado para Estafilococos coagulase positiva e coliformes termotolerantes. Em três isolados de *Staphylococcus* spp. verificou-se a presença de genes codificadores de enterotoxina estafilocócica B. Pode-se concluir que as escolas que fizeram parte da pesquisa não apresentam padrões higienicossanitários adequados, pois foram encontradas inadequações tanto na avaliação pela lista de verificação como nos resultados das análises microbiológicas.

Palavras-chave: alimentação escolar; análise microbiológica; boas práticas de manipulação; multiplex PCR; enterotoxina estafilocócica

Abstract

VITORIA, Jéssica Silveira. **Good practices of public schools Food Services and sanitary conditions of hands of food handlers.** 2017. 104f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

School feeding should provide safe food for their hygienic and sanitary conditions, seeking to protect and promote the health of students. The aim of this study was to evaluate the sanitary conditions of municipal schools in the city of Pelotas - RS, through the application of a checklist and microbiological analyses of air, food handling surface, water, food preparations and hands of food handlers. In addition, the presence of classical EE genes (A, B, C, D and E) in *Staphylococcus* spp. was verified. Visits were carried out in 15 municipal schools with application of the checklist and sample collection for microbiological analyses. Counts of mesophilic aerobic bacteria and molds and yeasts in the air samples, counts of thermotolerant coliforms and aerobic mesophilic bacteria in samples of manipulation surfaces and counting of coliforms and *Escherichia coli* in water samples were carried out. In the food handlers' hands were counts of thermotolerant coliforms and *Staphylococcus* spp. In the food preparations, counts of thermotolerant coliforms, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* spp. and *Salmonella* spp. were realized. Isolates from *Staphylococcus* spp. were submitted to the multiplex polymerase chain reaction technique in order to verify the presence of genes coding for classical staphylococcal enterotoxins. The results obtained from the checklist indicated a high percentage of nonconformities, and two of the 15 schools presented a "high sanitary risk situation" and all others were classified as "regular sanitary risk situation". Regarding the microbiological analyses, the air quality was satisfactory in all schools evaluated. However, counts above that allowed for counting of mesophilic aerobic bacteria in food and total coliform surfaces and *Escherichia coli* in water samples were found. Food handlers' hands and the food preparations presented counts above the recommended for *Staphylococcus* coagulase positive and thermotolerant coliforms. In three isolates of *Staphylococcus* spp. the presence of staphylococcal enterotoxin B encoding genes was verified. It can be concluded that the schools that were part of the research did not present adequate hygienic and sanitary standards, since inadequacies were found both in the evaluation by the checklist and in the results of the microbiological analyses.

Keywords: school feeding; microbiological analyses; good handling practices; multiplex polymerase chain reaction; Staphylococcal enterotoxin

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Percentual de adequação por bloco de avaliação e situação de risco sanitário das escolas municipais. Pelotas, 2017.....	50
Tabela 2	Resultado das análises microbiológicas de ar ambiental das escolas municipais. Pelotas, 2017.....	52
Tabela 3	Resultado das análises microbiológicas de superfície das escolas. Pelotas, 2017.	53
Tabela 4	Análise microbiológica da água coletada em escolas municipais. Pelotas, 2017.	54

Artigo 2

Tabela 1	Resultados das análises microbiológicas realizadas nas mãos dos manipuladores de alimentos de escolas municipais. Pelotas, 2017.....	64
Tabela 2	Alimentos coletados nas escolas municipais, distribuídos de acordo com a classificação proposta por Greig e Ravel (2009). Pelotas, 2017.....	65
Tabela 3	Contagem de Estafilococos coagulase positiva (ECP) em amostras de alimentos coletadas em escolas municipais. Pelotas, 2017.....	66
Tabela 4	Alimentos coletados em escolas municipais com contagem de coliformes termotolerantes. Pelotas, 2017.....	67

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABP	Agar Baird Parker
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI	Caldo de Infusão Cérebro e Coração
BP	Boas Práticas
CECANE	Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar
DHAA	Direito Humano à Alimentação Adequada
DNA	Ácido desoxirribunucleídeo
DTA	Doença transmitida por alimento
EC	<i>Escherichia coli</i>
ECP	Estafilococos coagulase positiva
ECN	Estafilococos coagulase negativa
EE	Enterotoxina estafilocócica
Est.	Estimado
FDA	Food and Drug Administration
FNDE	Fundo Nacional de Desenvolvimento Humano
g	Gramas
HE	Ágar Hektoen
LIA	Ágar Lisina Ferro
LOSAN	Lei Orgânica da Segurança Alimentar e Nutricional
LST	Lauril Sulfato de Sódio
mL	Mililitro (s)
mPCR	multiplex PCR
MYP	Manitol Gema de Ovo Polimixina
Nº	Número
NA	Ágar Nutriente
NMP/g	Número Mais Provável por grama de alimento
pb	Pares de base
PCA	Ágar Padrão para contagem
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PNAE	Programa Nacional de Alimentação Escolar
SMED	Secretaria Municipal de Educação
RS	Rio Grande do Sul

RV	Rappaport-Vassiliadis
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SAN	Segurança Alimentar e Nutricional
TSI	Açúcar Ferro
UANs	Unidades de Alimentação e Nutrição
UFC/g	Unidades Formadoras de Colônia por grama
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
VRB	Ágar Bile Vermelho Violeta Lactose
XLD	Ágar Xilose-lisina-desoxicolato

Sumário

1 Introdução Geral	09
1.1 Justificativa	10
1.2 Objetivos	10
1.2.1 Objetivo geral	10
1.2.2 Objetivos específicos	10
1.3 Hipóteses	11
2 Revisão bibliográfica	12
2.1 Programa Nacional de Alimentação Escolar	12
2.2 Segurança dos alimentos	13
2.3 Avaliação das boas práticas	15
2.4 Indicadores higienicossanitários e patogênicos	16
Projeto de Pesquisa	19
3 Relatório de Campo	32
4 Artigo 1	34
5 Artigo 2	50
6 Considerações finais	66
Referências Gerais	68
Apêndices	81
Anexos	84

1 Introdução Geral

A adequação da alimentação pode ser compreendida sob diversos aspectos e, entre estes, a qualidade sanitária dos alimentos. Entre os principais desafios a serem alcançados pela saúde pública, está a garantia da oferta de alimentos seguros à população. Embora os governos de todo o mundo estejam trabalhando para melhorar a segurança do abastecimento alimentar, a ocorrência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) continua sendo um significativo problema de saúde em países desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO, 2006; BRASIL, 2010).

Pistore e Gelinskib (2006) afirmam que houve um aumento gradativo da ocorrência de surtos de DTA especialmente nas escolas, e salientam que um alto número de crianças recebe a alimentação escolar como única refeição diária. Além disso, esta população caracteriza-se por uma maior suscetibilidade a infecções, pois passam por constantes mudanças como as do sistema imunológico (REYES, 2007).

No contexto brasileiro, deve-se aliar a vulnerabilidade das crianças a outro dado, as creches e escolas representam o terceiro local de maior ocorrência de surtos de DTA segundo descrito pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015). Apesar da existência de regulamentos específicos, as medidas de segurança tomadas durante a preparação da refeição nas escolas ainda são insuficientes, já que a maioria das escolas não levam em consideração os requisitos sanitários específicos necessários para os vários estágios da produção de alimentos (SANTANA et al., 2009).

As condições higienicossanitárias dos alimentos produzidos em Unidades de Alimentação e Nutrição (UANs) escolares estão relacionadas com fatores importantes, como o processo de produção deste alimento, deficiência na refrigeração, técnica de preparo, higiene dos manipuladores e utensílios, temperatura e tempo de preparo, cocção, distribuição e estocagem (DANIELS et al., 2002). Esses fatores contribuem tanto para a contaminação dos alimentos, como para proliferação e sobrevivência de micro-organismos (SILVA JR, 2014).

Estima-se que *Staphylococcus aureus* colonize de 30 a 50% da população humana, sendo as narinas seu principal reservatório, embora também possa ser encontrado nas mãos (GELATTI et al., 2009; VASCONCELOS & CUNHA, 2010). Manipuladores de alimentos estão entre as principais fontes de contaminação, e seu papel na preparação de refeições é crucial na determinação da qualidade higienicossanitária do produto final (BHATIA & ZAHOOR, 2007; KAMAL et. al., 2013).

A ingestão das toxinas pré-formadas por estirpes enterotoxigênicas presentes em alimentos conduz frequentemente ao desenvolvimento de intoxicação alimentar (HENNEKINNE et al., 2010). A lavagem das mãos foi identificada como um dos aspectos mais importantes para evitar a propagação bacteriana (SOARES et al., 2012). Assim, torna-se relevante a avaliação da presença de *S. aureus* nas mãos dos manipuladores, pois podem ser uma importante fonte de contaminação alimentar por meio de secreções respiratórias ou contato direto via mãos durante o preparo e/ou manuseio de alimentos (SCOTT, 2003; KAMAL et al., 2013; FERREIRA et. al., 2014; OLIVEIRA & GONÇALVES, 2015).

1.1 Justificativa

Considerando que os escolares fazem parte de um grupo de reconhecida suscetibilidade à DTA, o objetivo deste estudo foi avaliar as condições higienicossanitárias na produção de refeições por meio da aplicação de uma lista de verificação de Boas Práticas e análises microbiológicas que forneceram informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a presença de patógenos ou sobre a deterioração dos alimentos. Almejou-se contribuir com informações para o melhoramento de instalações físicas e conscientização da importância dos manipuladores na produção de alimentos inócuos, a fim de que adquiram conhecimentos necessários aos cuidados higiênicos, às condições operacionais e ao preparo da alimentação, por meio de treinamentos periódicos pautados no atendimento às Boas Práticas e aos requisitos normativos pertinentes, para que sejam aplicadas medidas preventivas e corretivas, garantindo aos escolares alimentos seguros.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar as condições higienicossanitárias no preparo da alimentação em escolas municipais de Pelotas, RS, por meio da aplicação de uma lista de verificação de boas práticas e análises microbiológicas.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a adoção de boas práticas em serviços de alimentação de escolas, utilizando uma lista de verificação em boas práticas;

- Quantificar a presença de bactérias aeróbias mesófilas e de bolores e leveduras no ar ambiental;
- Quantificar a presença de coliformes termotolerantes e bactérias aeróbias mesófilas em superfícies de manipulação de alimentos;
- Verificar a presença de coliformes totais e *Escherichia coli* na água coletada das torneiras dos serviços de alimentação escolares;
- Quantificar a presença de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp. nas amostras de mãos de manipuladores de alimentos.
- Verificar e quantificar a presença de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* spp em preparações alimentícias servidas nas escolas municipais;
- Verificar a presença dos genes produtores de enterotoxinas A, B, C, D e E nas cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de preparações servidas nas escolas e das mãos dos manipuladores.

1.3 Hipóteses

- Existe alto percentual de não conformidades no preparo dos alimentos nos serviços de alimentação das escolas municipais de Pelotas.
- Existe contaminação por micro-organismos no ar ambiental, nas superfícies de manipulação, na água coletada nas torneiras, nas mãos de manipuladores e nas preparações alimentícias servidas.
- Os isolados de *Staphylococcus* spp., provenientes de mãos de manipuladores e de preparações alimentícias podem ser produtores de enterotoxinas estafilocócicas clássicas (A, B, C, D e E).

2 Revisão bibliográfica

2.1 Programa Nacional de Alimentação Escolar

A assistência alimentar no ambiente escolar vem sendo preocupação dos órgãos educacionais em nível mundial (OCHSENHOFER, 2006), pois os programas voltados para a alimentação escolar acarretam efeitos positivos tanto no crescimento, quanto na aprendizagem dos alunos (GEENNHALGH et al., 2007).

O Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), popularmente conhecido como alimentação escolar, é gerenciado pelo Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) e foi implantado em 1955, visando à transferência, em caráter suplementar, de recursos financeiros aos estados, ao Distrito Federal e aos municípios destinados a suprir, parcialmente, as necessidades nutricionais dos alunos. É o mais antigo programa do governo brasileiro na área de alimentação escolar e de Segurança Alimentar e Nutricional (SAN), sendo considerado um dos maiores e mais abrangentes do mundo, no que se refere ao atendimento universal a escolares e de garantia do direito humano à alimentação adequada e saudável (FNDE, 2015).

Assegurado pela Constituição de 1988, o PNAE tem caráter universal e, segundo o FNDE, atendeu em 2015 cerca de 42,6 milhões de estudantes da educação básica e de jovens e adultos, durante os dias letivos, com investimentos na ordem de R\$ 3,8 bilhões (FNDE, 2015). Atendendo todos os alunos matriculados na educação básica das escolas públicas, federais, filantrópicas, comunitárias e confessionais do país, segundo os princípios do Direito Humano à Alimentação Adequada (DHAA) e da SAN (FNDE, 2015).

Segundo a Resolução nº 38, de 23 de agosto de 2004, que estabelece os critérios para execução do PNAE, o cardápio da alimentação escolar será elaborado por nutricionista habilitado, que deverá assumir a responsabilidade técnica do programa de modo a suprir, no mínimo, 15% das necessidades nutricionais diárias dos alunos matriculados em creche, pré-escola e ensino fundamental, e, no mínimo, 30% das necessidades nutricionais diárias dos alunos das escolas indígenas, durante sua permanência em sala de aula. Dessa forma, a alimentação escolar atende às necessidades nutricionais dos alunos e contribui para a formação de hábitos alimentares saudáveis durante sua permanência em sala de aula. Ainda, colabora para o crescimento, desenvolvimento, aprendizagem, rendimento escolar e a formação de hábitos alimentares saudáveis dos alunos, não só por meio da oferta da

alimentação escolar, mas também por meio de ações de educação alimentar e nutricional (BRASIL, 2006).

2.2 Segurança dos alimentos

Em 15 de setembro de 2006, foi publicada a Lei Nº 11.346, conhecida como Lei Orgânica da Segurança Alimentar e Nutricional (LOSAN), que passa ao poder público o dever de adotar políticas e ações necessárias à promoção e garantia da segurança alimentar e nutricional da população. A segurança alimentar abrange, entre outros aspectos, a garantia da qualidade biológica, sanitária, nutricional e tecnológica dos alimentos, bem como seu aproveitamento, estimulando práticas alimentares e estilos de vida saudáveis que respeitem a diversidade étnica, racial e cultural da população (BRASIL, 2006). Já a segurança de alimentos refere-se aos alimentos seguros ou a inocuidade dos alimentos (WHO, 2013).

Existem aproximadamente 250 tipos de DTA e, dentre elas, muitas são causadas por micro-organismos, os quais são responsáveis por sérios problemas de saúde pública e expressivas perdas econômicas (CDC, 2006). As DTA são causadas pela ingestão de alimentos que podem estar contaminados com perigos físicos, químicos ou biológicos, ou que possuem em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas (SILVA Jr, 2014). Doenças diarreicas matam cerca de 2,2 milhões de pessoas anualmente, a maioria das quais são crianças. A diarreia é o sintoma de DTA mais comum, mas outras consequências graves incluem insuficiência renal e hepática, distúrbios neurais, artrite reativa e morte (WHO, 2013).

A multiplicidade de agentes causais resulta em um número significativo de possibilidades para a ocorrência das DTA, que podem se apresentar de forma crônica ou aguda, com características de surto ou de casos isolados, com distribuição localizada ou disseminada e com formas clínicas diversas (BRASIL, 2010). Surtos são definidos por episódios em que duas ou mais pessoas apresentam sinais e sintomas semelhantes após a ingestão de um determinado alimento (WHO, 2008).

A contaminação por micro-organismos que causam DTA ocorre pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados o que pode acontecer em toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até o consumo (plantio, manuseio, transporte, cozimento, acondicionamento, etc.). Entre os alimentos mais frequentemente envolvidos em surtos alimentares, estão as preparações mistas em 14,1% dos casos, ou seja, aquelas que incluem matéria-prima de origem vegetal e animal (como

maionese e panquecas) e produtos à base de ovos em 7,8% dos casos (BRASIL, 2015).

Segundos dados do Ministério da Saúde, no período de 2000 a outubro de 2015, ocorreram no Brasil 10.666 surtos de DTA, envolvendo 209.240 doentes e 155 óbitos, sendo que, em 50,8% deles não foram identificados os agentes etiológicos e em 8,7% o local de ocorrência foram creches ou escolas. A região Sul apresentou 34,8% dos casos de surtos registrados neste período no país, sendo que em 58,1% dos casos, os agentes etiológicos responsáveis pelos surtos não foram identificados onde 14,4% provocados por *Salmonella* spp., 7,7% por *Staphylococcus aureus*, 6,5% *Escherichia coli* e 3,1% por *Bacillus cereus* (BRASIL, 2015).

A suscetibilidade para ocorrência de DTA é maior em grupos como crianças, idosos, imunodeprimidos e pessoas com acloridria gástrica (BRASIL, 2010), com metade dos casos ocorrendo em crianças, sendo a maioria com menos de 15 anos de idade (CDC, 2009). Essa suscetibilidade se deve por muitas razões, como por exemplo, a imaturidade do sistema imunológico por ainda estar em desenvolvimento, o que diminui a sua capacidade para combater infecções; as crianças têm peso corporal menor, o que faz com que doses menores de um agente patogênico sejam capazes de causar doença; elas têm controle limitado sobre sua dieta, o que está relacionado com maior risco de segurança dos alimentos; e ainda, a produção de ácido do estômago é reduzida, diminuindo a sua capacidade para combater bactérias patogênicas (PWG, 2009).

No contexto brasileiro, deve-se aliar a vulnerabilidade das crianças a outro dado preocupante: as creches e escolas representam o terceiro local de maior ocorrência de surtos de DTA, segundo descrito pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015). Assim, para que o ambiente escolar seja um espaço pleno de formação de sujeitos e exercício de direitos, é fundamental que se produza e distribua alimentos seguros e saudáveis (CECANE, 2013).

Todos os serviços de alimentação, inclusive as escolas, devem cumprir uma série de determinações relacionadas aos processos e serviços, desde suas instalações, aquisição, armazenamento e manipulação dos alimentos até a definição de responsabilidades, documentação e registros incorporados em um Manual de Boas Práticas (CECANE, 2013).

2.3 Avaliação das Boas Práticas

Considerando a necessidade de constante melhoria do controle sanitário, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovou o Regulamento Técnico de Boas Práticas em Serviços de Alimentação, Resolução RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004). Conforme Antunes (2005), os procedimentos de manipulação dos alimentos e da saúde dos manipuladores de alimentos em si, são de fundamental importância na epidemiologia de DTA. Essas podem ser controladas com a adoção de Boas Práticas (BP) por estabelecimentos produtores de alimentos.

As BP são procedimentos que devem ser adotados em unidades de alimentação e nutrição a fim de garantir a qualidade higienicossanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. A legislação federal para BP pode ser complementada por outras legislações municipais e estaduais com a finalidade de incluir requisitos específicos do local e promover a melhoria das condições higienicossanitárias dos estabelecimentos (BRASIL, 2004). Quando o uso das Boas Práticas não é rotina no estabelecimento, a contaminação dos alimentos produzidos é mais provável de ocorrer, o que pode levar à surtos de DTA (SACCOL, et al., 2015).

Para implementar as BP, o primeiro passo é administrar uma lista de verificação para avaliar as conformidades e não-conformidades em todos os estágios da produção de alimentos. A partir dos resultados obtidos pela avaliação inicial, um Plano de Ação deverá ser criado de acordo com as não conformidades encontradas, e em seguida, os procedimentos corretos devem ser estabelecidos (SENAC, 2002). De acordo com Tomich et al. (2005), a lista de verificação é utilizada na produção de alimentos para subsidiar visitas de inspetores de saúde e segurança, bem como verificação pelo próprio estabelecimento.

No âmbito da alimentação escolar, desde novembro de 2006, o FNDE firmou parcerias com Instituições Federais de Ensino Superior para criação de Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE). O objetivo dessa parceria é o desenvolvimento de ações que auxiliem na qualificação da gestão e execução do PNAE. Com a necessidade de instrumentalizar os nutricionistas que atuam no PNAE, foram desenvolvidas ferramentas com o intuito de auxiliar e otimizar o trabalho desses profissionais (CECANE, 2013).

Neste sentido, o CECANE da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP),

com o apoio do CECANE da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), elaboraram e validaram uma “Lista de verificação em boas práticas para unidades de alimentação e nutrição escolares” tendo como base a legislação brasileira e listas de verificação utilizadas por nutricionistas de secretarias de educação de municípios brasileiros. Assim, a ANVISA estimula a aplicação desses instrumentos em prol de uma alimentação mais segura destinada àqueles que hoje são beneficiários de uma política pública e amanhã se tornarão consumidores mais críticos, conscientes e saudáveis (CECANE, 2013).

As ferramentas para as BP na alimentação escolar materializam o caráter intersetorial, envolvendo órgãos do governo relacionados tanto a educação quanto ao controle sanitário, que devem ter ações de promoção de uma alimentação segura e mostram-se instrumentos oportunos e relevantes que aliam o conhecimento científico, a inovação tecnológica e as BP prescritas na legislação sanitária. Em conjunto, essa ferramenta criada pelo CECANE auxilia na avaliação das práticas aplicadas e indica, a partir de uma classificação por grau de risco higienicossanitário, as melhorias necessárias para a garantia de alimentos mais seguros (CECANE, 2013).

2.4 Indicadores higienicossanitários e patogênicos

Abdul-Mutalib et al. (2012) identificaram a falta de conhecimento sobre higiene e segurança de alimentos durante a preparação, processamento e armazenamento como sendo a principal contribuição para a violação da higiene e inocuidade dos alimentos. De tal modo, manter a qualidade sanitária dos alimentos é uma das condições essenciais para a promoção e manutenção da saúde, que deve ser assegurada pelo controle eficiente de produção em todas as etapas da cadeia alimentar (FIGUEIREDO, 2011).

O conhecimento insuficiente por parte dos manipuladores de alimentos em quesitos como higiene alimentar, práticas adequadas de higiene, atitudes adequadas em saneamento e segurança de alimentos, podem levar a multiplicação de patógenos (SANI & SIOW, 2014). Micro-organismos patogênicos podem entrar na cadeia alimentar em diferentes etapas do processo, e como são altamente versáteis, podem se adaptar ao ambiente produtivo, conseguindo sobreviver, multiplicar e/ou produzir compostos tóxicos (HAVELAAR, et al., 2009).

Micro-organismos indicadores são utilizados para avaliar a qualidade microbiológica de alimentos, e quando presentes podem fornecer informações sobre

a ocorrência de contaminação de origem fecal e também sobre a provável presença de patógenos (SILVA; GALLO, 2003; FRANCO & LANDGRAF, 2008). Coliformes são indicadores das condições de higiene dos processos de fabricação, membros da família *Enterobacteriaceae*, incluem os coliformes totais, os coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, devido a sua presença estar comumente associada com bactérias patogênicas, é considerado um risco à saúde dos consumidores (RALL et al., 2008; SILVA et al, 2010).

Caracteriza-se como alimento contaminado aquele alimento que apresenta uma característica alterada, mas nem sempre perceptível, pois a maioria dos surtos tem sido relacionados à ingestão de alimentos com boa aparência, sabor e odor normais, sem qualquer alteração organoléptica. Alimentos contaminados por pequenas quantidades de micro-organismos podem não causar surtos alimentares, porém se forem conservados em condições que permitam a multiplicação desses agentes microbianos, as chances para a ocorrência de surtos aumentam significativamente. Isso ocorre porque a contagem de patógenos necessária para causar uma DTA geralmente é menor que a quantidade de micro-organismos necessária para modificar as características dos alimentos, dificultando a rastreabilidade dos alimentos causadores de DTA (CDC, 2006; OLIVEIRA, et al., 2010).

De acordo com Carmo et al. (2005), os surtos de DTA podem ser investigados por meio da identificação etiológica laboratorial, exames clínicos, bromatológicos ou por critérios epidemiológicos. Por esses métodos é possível obter conclusões sobre os agentes etiológicos, veículo, local de ocorrência e demais características pertinentes. Estudos apontam as bactérias como as principais causadoras de DTA (FIGUEIREDO, 2001; WELKER, et al., 2010; BRASIL, 2017), pois atuam sob numerosos tipos de substratos, sob diferentes faixas de temperatura e de pH, bem como de condições do meio ambiente (FIGUEIREDO, 2001). *Salmonella* spp. é considerada uma das principais bactérias potencialmente patogênicas envolvidas em surtos alimentares, estando associada normalmente ao consumo de produtos de origem animal contaminados, como ovos, leite, seus derivados e produtos cárneos (SILVA et al., 2010).

Staphylococcus aureus é outro importante patógeno, que tem sido considerado um risco de origem alimentar por muito tempo, sendo a terceira causa de DTA mais importante no mundo (NORMANNO, et al., 2005; EFSA, 2013). Essa bactéria pode

colonizar a pele e o interior de narinas de humanos e é encontrada em uma significativa parcela da população (KLUYTMANS & WERTHEIM, 2005). A alta prevalência de isolados coletados de manipuladores de alimentos com capacidade enterotoxigênica tem sido relatada por alguns estudos (UDO, et al., 2009; RALL, et al., 2010; WATTINGER, et al., 2012). A toxina é liberada durante a multiplicação do micro-organismo no alimento e só afeta o consumidor quando o alimento contaminado é ingerido (GUSTAFSON, et al., 2015).

Apesar dos manipuladores serem geralmente a principal fonte de contaminação dos alimentos, equipamentos e ambiente também podem ser fontes de contaminação por *S. aureus* (GUSTAFSON, et al., 2015). Assim, as práticas de higiene apropriadas devem ser respeitadas para as superfícies de contato com os alimentos, bem como para as mãos dos manipuladores (SOSPEDRA et al., 2012).

Bacillus Cereus, assim como o *S. aureus*, acarreta intoxicação alimentar por meio da produção de toxinas pré-formadas nos alimentos manipulados de maneira inadequada ou toxinfecção através da produção de toxinas no trato gastrointestinal após o consumo de alimento contaminado (STEWART, 2005). *Bacillus cereus* é uma bactéria Gram positiva, anaeróbia facultativa, formadora de esporos, associada com intoxicação alimentar em humanos (SCHNEIDER et al., 2004). Esse micro-organismo está em todo ambiente e é encontrado em baixos níveis em muitos alimentos frescos e processados. O arroz é o principal alimento associado à contaminação por *B. cereus*, mas massas, cremes, almôndegas, aves e carnes cozidas têm sido associados a surtos (HPSC, 2012). Os esporos bacterianos são resistentes ao cozimento, e a manipulação inadequada do alimento permite que esse patógeno se multiplique e produza toxinas estáveis ao calor (BROWN, 2000). Assim, o armazenamento do alimento pronto deve ser adequado (acima de 60°C ou abaixo de 10°C) antes do reaquecimento ou consumo, representando maior risco principalmente em restaurantes e escolas onde existe um grande número de consumidores (HPSC, 2012).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Projeto de Pesquisa

Condições higienicossanitárias de preparações alimentícias e das mãos de manipuladores de escolas públicas do município de Pelotas

Jéssica Silveira Vitoria

Pelotas, 2016

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a Kelly Lameiro Rodrigues – Faculdade de Nutrição - UFPel (Orientador)

Prof^a. Dr^a Jozi Fagundes de Mello - UFPel (Co-orientador)

Prof^a. Dr^a Natacha Deboni Cereser – Faculdade de Veterinária – UFPel (Titular)

Prof. Dr^a Ângela Nunes Moreira – Faculdade de Nutrição – UFPel (Suplente)

Sumário

1 Introdução	23
1.2 Objetivos	24
1.2.1 Objetivo geral	24
1.2.2 Objetivos específicos	24
2 Materiais e Métodos.....	25
2.1 Delineamento experimental.....	25
2.2 Avaliação da adoção das boas práticas	25
2.3 Coleta das mãos dos manipuladores de alimentos e análises microbiológicas	26
2.4. Coleta das preparações alimentícias e análises microbiológicas	27
2.5 Verificação da presença de gene codificadores de enterotoxinas estafilocócicas	28
2.6. Análise estatística	29
2.7 Aspectos éticos	29
3 Cronograma	30
4 Orçamento	31

Resumo

Entre os principais desafios a serem alcançados pela saúde pública, está a garantia da oferta de alimentos seguros à população. No Brasil, as creches e escolas representam o terceiro local de maior ocorrência de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos. Deste modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar as condições higienicossanitárias de preparações alimentícias e das mãos de manipuladores de alimentos de escolas municipais atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar em Pelotas-RS. Este será um estudo transversal que avaliará 50% (n=15) das 31 escolas municipais em funcionamento, entre educação infantil e educação fundamental. Em cada escola será aplicada uma lista de verificação da adequação das boas práticas, elaborada pelos Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE), coletadas amostras de preparações alimentícias e das mãos dos manipuladores, sendo realizadas três visitas para repetição das coletas a fim de explanar mais precisamente a realidade do local. Para tanto, será realizada a contagem de: coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp. das mãos dos manipuladores; coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* spp. das preparações alimentícias. Além disso, será verificada a presença dos genes produtores de enterotoxinas A, B, C, D e E nas cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de preparações servidas nas escolas e das mãos dos manipuladores.

Palavras chave: doenças transmitidas por alimentos; alimentação escolar, micro-organismos indicadores, lista de verificação.

1 Introdução

A adequação da alimentação pode ser compreendida sob diversos aspectos e, entre estes, a qualidade sanitária dos alimentos. Entre os principais desafios a serem alcançados pela saúde pública, está a garantia da oferta de alimentos seguros à população. Embora os governos de todo o mundo estejam trabalhando para melhorar a segurança do abastecimento alimentar, a ocorrência de doenças transmitidas por alimentos (DTA) continua sendo um significativo problema de saúde em países desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO, 2006; BRASIL, 2010).

Pistore e Gelinskib (2006) afirmam que houve um aumento gradativo da ocorrência de surtos de DTA especialmente nas escolas, e salientam que um alto número de crianças recebe a alimentação escolar como única refeição diária. Além disso, esta população caracteriza-se por uma maior suscetibilidade a infecções, pois passam por constantes mudanças como as do sistema imunológico (REYES, 2007).

No contexto brasileiro, deve-se aliar a vulnerabilidade das crianças a outro dado, as creches e escolas representam o terceiro local de maior ocorrência de surtos de DTA segundo descrito pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015). Apesar da existência de regulamentos específicos, as medidas de segurança tomadas durante a preparação da refeição nas escolas ainda são insuficientes, já que a maioria das escolas não levam em consideração os requisitos sanitários específicos necessários para os vários estágios da produção de alimentos (SANTANA et al., 2009).

As condições higienicossanitárias dos alimentos produzidos em Unidades de Alimentação e Nutrição (UANs) escolares estão relacionadas com fatores importantes, como o processo de produção deste alimento, deficiência na refrigeração, técnica de preparo, higiene dos manipuladores e utensílios, temperatura e tempo de preparo, cocção, distribuição e estocagem (DANIELS et al., 2002). Esses fatores contribuem tanto para a contaminação dos alimentos, como para proliferação e sobrevivência de micro-organismos (SILVA JR, 2014).

Estima-se que *Staphylococcus aureus* colonize de 30 a 50% da população humana, sendo as narinas seu principal reservatório, embora também possa ser encontrado nas mãos (GELATTI et al., 2009; VASCONCELOS & CUNHA, 2010). Manipuladores de alimentos estão entre as principais fontes de contaminação, e seu papel na preparação de refeições é crucial na determinação da qualidade higienicossanitária do produto final (BHATIA & ZAHOR, 2007; KAMAL et. al., 2013).

A ingestão das toxinas pré-formadas por estirpes enterotoxigênicas presentes em alimentos conduz frequentemente ao desenvolvimento de intoxicação alimentar (HENNEKINNE et al., 2010). A lavagem das mãos foi identificada como um dos aspectos mais importantes para evitar a propagação bacteriana (SOARES et al., 2012). Assim, torna-se relevante a avaliação da presença de *S. aureus* nas mãos dos manipuladores, pois podem ser uma importante fonte de contaminação alimentar por meio de secreções respiratórias ou contato direto via mãos durante o preparo e/ou manuseio de alimentos (SCOTT, 2003; KAMAL et al., 2013; FERREIRA et. al., 2014; OLIVEIRA & GONÇALVES, 2015).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar as condições higienicossanitárias de preparações alimentícias e das mãos de manipuladores de alimentos de escolas municipais atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) em Pelotas-RS.

1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a adoção de boas práticas em UANs de escolas públicas, tendo como referência uma lista de verificação em boas práticas;
- Avaliar as condições higienicossanitárias das mãos dos manipuladores de alimentos, por meio de contagens de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp.
- Verificar e quantificar a presença de coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* spp em preparações alimentícias servidos nas escolas municipais;
- Verificar a presença dos genes produtores de enterotoxinas A, B, C, D e E nas cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de preparações servidas nas escolas e das mãos dos manipuladores.

2 Material e Métodos

2.1 Delineamento experimental

Este será um estudo transversal a ser realizado para avaliar as condições higienicossanitárias nas unidades de alimentação e nutrição (UAN) de escolas públicas municipais da cidade de Pelotas - RS, atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. Segundo os dados obtidos na Secretaria Municipal de Educação, Pelotas tem 31 escolas municipais em funcionamento, entre educação infantil e educação fundamental. Neste estudo serão avaliadas por conveniência 15 escolas, escolhidas por meio de sorteio aleatório, representando 50% do total. Em cada escola será aplicada uma lista de verificação da adequação das boas práticas, serão coletadas amostras de preparações alimentícias e das mãos dos manipuladores, sendo realizadas três visitas para repetição das coletas, totalizando no mínimo 45 amostras de alimentos e de mãos, a fim de explicar mais precisamente a realidade do local.

2.2 Avaliação da adoção das boas práticas

Para a avaliação da adoção de boas práticas nas UAN das escolas será aplicada uma lista de verificação em boas práticas para UAN escolares, elaborada pelos Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE) (Anexo A). A coleta desses dados será realizada por meio de observação direta no local, questionamentos aos funcionários e/ou responsáveis técnicos e análise da documentação do estabelecimento. Cada conformidade será computada como SIM, cada não conformidade como NÃO e os itens considerados não pertinentes à avaliação como NÃO APLICÁVEL (NA). A Lista de Verificação é composta por 99 questões distribuídas em seis blocos temáticos.

Para cada uma das questões da lista de verificação serão atribuídas notas que variam de zero a oito, conforme o grau de risco e importância para a segurança dos alimentos. Todas as respostas assinaladas na alternativa “não”, que caracterizam a não conformidade do item às boas práticas, recebem o escore zero. Para cada escola é obtida uma pontuação final e com base nessa pontuação a escola é classificada por bloco e/ou por pontuação total em grau de risco sanitário: Situação de risco sanitário muito alto (0 a 25 pontos), Situação de risco sanitário alto (26 a 50 pontos), Situação

de risco sanitário regular (51 a 75 pontos), Situação de risco sanitário baixo (76 a 90) e Situação de risco sanitário muito baixo (91 a 100 pontos).

2.3 Coleta das mãos dos manipuladores de alimentos e análises microbiológicas

A coleta será realizada pelo esfregaço de suabe umedecido com água peptonada, passado de forma angular com movimentos giratórios nas duas mãos imediatamente após a higienização. Prontamente após a coleta o material será transportado sob refrigeração até o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Nutrição para execução das análises. As análises microbiológicas serão realizadas de acordo com a metodologia recomendada no *Bacteriological Analytical Manual* (FDA, 2001).

Para a contagem de coliformes termotolerantes serão realizadas três diluições decimais e 1ml de cada diluição será inoculado em placas de Petri em duplicata. Após será vertido o Ágar Bile Vermelho Violeta Lactose (VRB) em dupla camada e as placas serão incubadas invertidas a uma temperatura de 35°C por 48 horas. Após o período de incubação, das placas que apresentarem entre 15 e 150 colônias típicas (vermelho púrpura com 0,5 mm de diâmetro rodeadas por um alo avermelhado de precipitação de sais biliares) serão selecionadas quatro colônias para serem repicadas em Caldo *Escherichia coli* (EC), incubadas a 45°C em banho-maria por 48h, observando se há multiplicação com produção de gás para confirmação de coliformes termotolerantes.

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp. será inoculado 0,1 mL de cada diluição em placas de Agar Baird Parker (ABP) com emulsão gema de ovo e telurito de potássio, pela técnica do espalhamento em superfície. As placas serão incubadas a 37°C por 48 h e, após esse período, as colônias presuntivas típicas e atípicas serão contadas. Serão consideradas colônias típicas aquelas circulares, lisas, convexas, de 2-3 mm de diâmetro, negras com textura úmida, bordas esbranquiçadas e rodeadas por uma zona opaca e frequentemente com um halo transparente. Para as colônias atípicas, serão consideradas, aquelas negras ou acinzentadas com um ou dois halos e também aquelas sem halos. Serão selecionadas quatro colônias de cada tipo e inoculadas em Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) que serão incubadas a 37°C por 24h. Posteriormente, será transferido 0,3 mL do cultivo em BHI para um tubo contendo Coagulase Plasma EDTA 0,3 mL (teste coagulase), e este será incubado a 37°C por 6 h. Aqueles que não formarem nenhum coágulo serão considerados negativos, os demais positivos.

2.4 Coleta das preparações alimentícias e análises microbiológicas

Em cada escola será coletada amostra de pelo menos uma preparação alimentícia, podendo este número variar de acordo com o cardápio do dia. Serão coletados em torno de 100 g de cada preparação em embalagens estéreis e com auxílio de utensílio utilizado pelo próprio local. As embalagens serão identificadas e o transporte das amostras será realizado em isopor com gelo até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição para a realização das análises microbiológicas. A metodologia utilizada para as análises microbiológicas será a recomendada pelo *Bacteriological Analytical Manual* (FDA, 2001).

Para a quantificação de coliformes termotolerantes será pesada 25 g da amostra e adicionada a 225 mL de água peptonada. A partir desta diluição inicial, outras diluições decimais serão preparadas para a contagem de coliformes pelo método do Número Mais Provável (NMP - 3 tubos). Um mililitro de cada diluição será transferido para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) com tubos de fermentação, sendo incubados a 35°C por 48 horas. Uma alçada de material de cada tubo positivo (turvação e formação de gás) será transferida para tubos contendo 10 mL de caldo *Escherichia coli* (EC) e tubos de Durham invertidos, sendo incubados a 45°C por 48 horas. Resultados de tubos positivos do caldo EC serão utilizados para estimar as contagens de coliformes termotolerantes com o auxílio da tabela do NMP.

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp. será inoculado 0,1 mL de cada diluição em placas de Agar Baird Parker (ABP) com emulsão gema de ovo e telurito de potássio, pela técnica do espalhamento em superfície. As placas serão incubadas a 37°C por 48 h e, após esse período, as colônias presuntivas típicas e atípicas serão contadas. Serão consideradas colônias típicas aquelas circulares, lisas, convexas, de 2-3 mm de diâmetro, negras com textura úmida, bordas esbranquiçadas e rodeadas por uma zona opaca e frequentemente com um halo transparente. Para as colônias atípicas, serão consideradas aquelas negras ou acinzentadas com um ou dois halos e também aquelas sem halos. Serão selecionadas quatro colônias de cada tipo, inoculadas em Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubadas a 37°C por 24 h. Posteriormente, será transferido 0,3 ml do cultivo em BHI para um tubo contendo Coagulase Plasma EDTA 0,3 ml (teste coagulase), e este será incubado a 37°C por 6 h. Aqueles que não formarem coágulo serão considerados negativos, os demais

positivos.

Para a contagem de *Bacillus cereus* serão selecionadas três diluições decimais e 0,1mL de cada diluição será inoculado em placas de Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), em duplicata. Após estas placas estarem secas elas serão incubadas invertidas a 32°C durante 24 horas. Depois serão selecionadas para contagem colônias típicas (esféricas, com bordas perfeitas, planas e secas, translúcidas ou levemente creme, rodeadas por um grande halo de precipitação e uma coloração rósea leitosa ao redor das colônias) bem isoladas para confirmação e será aplicado o teste confirmatório rápido de Holbrook & Anderson. Para a realização do teste confirmatório, as colônias serão repicadas em tubos com Ágar Nutriente (NA) inclinado e incubadas a 30°C por 24h. Após, será feito esfregaço da cultura que será coberto com Solução Aquosa 5% de Verde Malaquita e corado a quente durante dois minutos. Depois a lâmina será lavada e coberta com Solução de Sudan Black por 20 min, após a secagem, a lâmina será lavada com xileno (PA) e coberta com Solução de Safranina 0,5% por 20 segundos para posterior visualização ao microscópio.

Para análise de *Samonella* spp., inicialmente será realizado um pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada incubando-se a 37°C por 24h. Após a incubação, será transferido 1ml para o caldo Tetrionato, adicionado de 0,1mL de verde brilhante e 0,2mL de iodo, outro 0,1mL da amostra será inoculado em caldo Rappaport-Vassiliadis, ambos seguidos de incubação a 42°C por 24h. Esses meios de enriquecimento seletivo serão semeados em ágar Hektoen (HE) e ágar Xilose-lisina-desoxicolato (XLD), seguido de incubação a 37°C por 24h. Colônias consideradas características para HE (transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto) e XLD (cor de rosa escuro, com centro preto e uma zona avermelhada levemente transparente ao redor) serão submetidas a testes bioquímicos com Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e teste de urease e testes sorológicos com soro polivalente anti-*Salmonella*.

2.5 Verificação da presença de genes codificadores de enterotoxinas estafilocócicas

As análises serão realizadas no Laboratório de Imunologia Aplicada do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas. Os DNAs das cepas de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e coagulase negativa isolados neste estudo

serão submetidas à técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) a fim de verificar a presença dos genes das enterotoxinas estafilocócicas (SEs) A, B, C, D e E (SEA, SEB, SEC, SED e SEE). O DNA cromossomal será extraído pelo uso de *kit* comercial (PureLink Genomic DNA – K1820-01, Invitrogen).

Os produtos da PCR serão visualizados por eletroforese em gel de agarose 1,5% (Invitrogen) corado com brometo de etídeo (Promega), em tampão TBE 0,5X, sob luz ultravioleta e fotografados (Kodak Digital Science™ DC120). O controle negativo das reações consistirá da mesma composição da reação de PCR, porém com água Milli-Q estéril no lugar do DNA. Serão utilizados DNAs de *S.aureus* ATCCs 13565 (SEA), 14458 (SEB), 19095 (SEC), 23235 (SED) e 21664 (SEE) como controles positivos.

2.6 Análise estatística

O software SPSS (SPSS Inc, Chicago, versão 17.0, 2008) será usado para construir um banco de dados para descrição dos dados e análise de variância.

2.7 Aspectos éticos

Este estudo segue os princípios éticos dispostos na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (Conselho Nacional de Saúde, 2012) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, via Plataforma Brasil sob o protocolo 958.126 de 28/01/2015.

Os manipuladores de alimentos das escolas serão convidados a participar do estudo e aqueles que aceitarem deverão preencher o formulário de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) em duas vias, ficando uma cópia para o pesquisador e uma cópia para o participante. O acesso às escolas foi aprovado pela Secretaria Municipal de Educação (Apêndice B).

A identidade dos participantes será preservada em sua totalidade, de forma que a publicação dos resultados do estudo não permitirá a identificação dos indivíduos. O estudo não apresenta riscos físicos aos participantes, pois a coleta de material das mãos será realizada por meio de um suabe contendo água peptonada, e caso o participante sinta qualquer desconforto, poderá desistir de participar das coletas em qualquer momento.

4 Orçamento

Materiais	Valor total (R\$)
Meios de cultura para isolamento das bactérias	2.350,00
Plásticos (ependorfs, ponteiras, placas de Petri)	900,00
Material para PCR e eletroforese	2.500,00
Total	5.750,00

* Fonte dos recursos: PROAP/PPGNA e recursos de projeto com financiamento do orientador.

* Preparações serão coletadas mediante aprovação prévia da Secretaria Municipal de Educação.

* Transporte dos pesquisadores até as escolas será efetuado pelo setor de transportes da UFPel, previamente aprovado.

Referências

ABDUL-MUTALIB, N. A.; ABDUL-RASHID, M. F.; MUSTAFA, S.; AMIN-NORDIN, S.; HAMAT, R. A.; OSMAN, M. Knowledge, attitude and practices regarding food hygiene and sanitation of food handlers in Kuala Pilah, Malaysia. **Food Control**, v. 27, n. 2, p. 289–293, 2012.

ANTUNES, Fabiane. **Relação entre a ocorrência de diarreia e surtos alimentares em Curitiba-PR**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná: 2005. Disponível em: <http://www.imap.curitiba.pr.gov.br/wp-content/uploads/2014/03/Relacao_entre_a_ocorrencia_de_diarreia_e_surtos_alimentares_em_curitiba.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015.

BHATIA, A; ZAHOOR, S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 3, p. 188—97, 2007.

BRASIL. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução nº 38, de 23 de agosto de 2004. **Estabelecer critérios para execução do PNAE**. Diário Oficial da União. 2004. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/component/k2/item/4228-resolu%C3%A7%C3%A3o-cd-fnde-n%C2%BA-38,-de-23-de-agosto-de-2004>>. Acesso em: 10 Out. 2015.

BRASIL. Resolução RDC n. 216 de 16 de setembro de 2004 do Ministério da Saúde. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 16 de setembro 2004. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=12546>>. Acesso em: 10 Out. 2015.

BRASIL. LEI 11.346 – **Lei de segurança alimentar e nutricional**. CONSEA. De 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. D. O. U. Diário Oficial da União de 18 set. 2006. Brasília, DR.

BRASIL. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução CD nº 32, de 10 de agosto de 2006. **Estabelece as normas para a execução do Programa Nacional de Alimentação Escolar**. Diário Oficial da União. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2010.

Disponível em:

<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. 2015. Disponível em:

<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/publicacoes-svs>>. Acesso em: 05 dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. 2017. Disponível em:

<<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

BROWN, K. Control of bacterial spores. **British Medical Bulletin**, v.56, p.158–71, 2000.

CARMO, G. M. I., et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, Brasília, ano 5, n.6, 2005. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/busca/buscar.cfm>>. Acesso em: 1 dez. 2015.

CECANE UFRGS/ UNIFESP. **Guia de Instruções das Ferramentas para as Boas Práticas na Alimentação Escolar**. 2013. Disponível em:

<<http://www.ufrgs.br/cecane/downloads/>> Acesso em: 23 dez. 2015.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. **Summary of notifiable diseases** - United States, 2007. **MMWR**, v. 56, n. 53, p. 1-94, July 9, 2009.

Disponível em <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5653a1.htm>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

Centers for Disease Control and Prevention – CDC. **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks** - United States, 1998-2002. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss5510.pdf> > Acesso em: 01 Dez. 2015.

DANIELS, N. A.; MACKINNON, L.; ROWE, S. M.; BEAN, N.H.; GRIFFIN, P. M.; MEAD, P.S. Foodborne disease outbreaks in United States schools. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 21, p. 623-8, 2002.

EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. **EFSA Journal**, v. 13, n. 1, p. 3991, 2015. Disponível em: <<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/EU-summary-report-trends-sources-zoonoses-2013.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

FERREIRA, J. S.; COSTA, W. L. R.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; OLIVEIRA, L.C.; ALMEIDA, R.C.C. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. **Food Control**, v. 37, p. 395 – 400, 2014.

FIGUEIREDO, Karla Vila Nova de Araújo. **A segurança de alimentos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar: o que revela a produção científica publicada entre 1990 e 2009**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde) – Universidade Federal da Bahia, Salvador - Bahia, 2011. Disponível em: <https://twiki.ufba.br/twiki/pub/PGNUT/DissertacoesDefendidas2011/Disserta%E7%E3o_Karla_Vila_Nova.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2015.

FIGUEIREDO, Roberto. Martins. SSOP: **Programa de Redução de Patógenos - Padrões e Procedimentos Operacionais de Sanitização**. São Paulo: Manole,

2001.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**.

Gaithersburg, AOAC International, 2001. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

FRANCO, Bernardete D. Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu: São Paulo, 182p., 2008.

Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE). Conselho Nacional dos Procuradores Gerais do Ministério Público dos Estados, do Distrito Federal e da União Grupo Nacional de Direitos Humanos. **Cartilha Nacional da Alimentação Escolar**. Brasília, DF. 2015. 2ª edição. Disponível em:

<<http://www.fnde.gov.br/programas/alimentacao-escolar/alimentacao-escolar-material-de-divulgacao/alimentacao-manuais/item/6820-cartilha-pnae-2015>>. Acesso em: 22 Nov. 2015.

GEENHALGH, T.; KRISTJANSSON, E.; ROBINSON, V. Realist review to understand the efficacy of school feeding programs. **BMJ**, v. 335, p. 858-61, 2007.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A.

Staphylococcus aureus resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, p. 501 – 516, 2009.

GUSTAFSON, J. E.; MUTHAIYAN, A.; DUPRE, J. M.; RICKE, S. C. Staphylococcus aureus and understanding the factors that impact enterotoxin production in foods: A review. **Food Control**, p. 1 – 14, 2015.

HAVELAAR, A.H.; BRUL, S.; JONG, A.; JONGE, R.; ZWIETERING, M.H.; KUILE, B.H. Future challenges to microbial food safety. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 79-94, 2009.

Health Protection Surveillance Centre (HPSC). Infectious Intestinal Disease: Public

Health & Clinical Guidance. **Bacillus cereus food-borne illness**. Julho, 2012. Disponível em: < <http://www.hpsc.ie/>>. Acesso em: 21 mar. 2016.

HENNEKINNE, J. A.; OSTYN, A.; GUILLIER, F.; HERBIN, S.; PRUFER, A.L.; DRAGACCI, S. How Should Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks Be Characterized? **Toxins**, v.2, n. 8, p. 2106-2116, 2010.

KAMAL, R. M.; BAYOUMI, M. A.; ABD El Aal, S. F. A. MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. **Food Control**, v. 33, n. 1, p. 49 - 53, 2013.

KLUYTMANS, J. A.; WERTHEIM, H. F. Nasal carriage of *Staphylo-coccus aureus* and prevention of nosocomial infections. **Infection**, v. 33, p. 3 - 8, 2005.

NORMANNO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; MULA, G.; DAMBROSIO, A.; POGGIU, A., et al. Coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, p. 73 – 79, 2005.

OCHSENHOFER, K.; QUINTELLA, L. C.; NASCIMENTO, A. P. B.; RUGA, G. M.; PHILIPPI, S. T.; SZARFAC, S. O papel da escola na formação da escola alimentar: merenda escolar ou cantina? **Nutrire: Ver Soc Bras Alim Nutr**, v. 31, n. 1, p. 1-16, 2006.

OLIVEIRA, A. B. A.; PAULA, C. M. D.; CAPALONGA, R., CARDOSO, M. R. I.; TONDO, E. C. Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão. **Revista HCPA**, v. 30, n.3, p. 279-285, 2010.

OLIVEIRA, N. S.; GONÇALVES, T. B. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em creches da cidade de Juazeiro do Norte – CE. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 3, n.1, 2015.

Pew Health Group - PWG. American Academy of Pediatrics. **Children and Foodborne Illness**. Novembro, 2009. Disponível em:

<<http://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/issue-briefs/2009/11/12/children-and-foodborne-illness>>. Acesso em: 30 dez. 2015.

PISTORE, A.R., GELINSKIB, J. M. L. N. Avaliação dos conhecimentos higiênico-sanitários dos manipuladores de merenda escolar: fundamento para treinamento contínuo e adequado. **Hig Aliment**, v.20, n. 146, p. 17-20, 2006.

RALL, V. L. M.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes em pescado Fresco e congelado. **PUBVET**, v. 2, n. 39, p. 1-17. 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/material/Cardoso375.pdf>> Acesso em: 20 mar. 2016.

RALL, V. L.M.; SFORCIN, J.M.; AUGUSTINI, V. C. M.; WATANABE, M.T.; FERNANDES Jr, A.; RALL, R, et al. Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp. isolated from nasal cavities and hands of food handlers. **Braz J Microbiol**, v. 41, p. 59—65, 2010.

REYES, J.E.; BASTIAS, J.M.; GUITIERREZ, M.R.; RODRIGUEZ, M.O. Prevalence of *Bacillus cereus* in dried milk products used by Chilean school feeding program. **Food Microbiol**, v. 24, p. 1 – 6, 2007.

SACCOL, A.L.F.; GIACOMELLI, S.C., MESQUITA, M.O.; CASTRO, A.K.F., SILVA Jr, E.A.; HECKTHEUER, L.H.R. Sanitary legislation governing Food Services in Brazil. **Food Control**, v. 52, p. 27 – 33, 2015.

SANTANA, N. G.; ALMEIDA, R.C.C.; FERREIRA, S. J.; ALMEIDA, F. P. Microbiological quality and safety of meals served to children and adopted good manufacturing practices in public school catering in Brazil. **Food Control**, v. 20, p. 255–261, 2009.

SCHNEIDER, K. R.; PARISH, M. E.; GOODRICH, R. M.; COOKINGHAM, T. Preventing Foodborne Illness: *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. **University of Florida**. Novembro, 2004. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/>>. Acesso em: 21 mar. 2016.

SCOTT, E. Food safety and foodborne diseases in 21st century homes. **Can. J. Infect. Dis.**, v.14, p.277-280, 2003.

SILVA Jr, Eneo Alves da. Segurança Alimentar. In: **Manual de Controle Higiênico - Sanitário Em Serviços de Alimentação** - 7^a Ed. São Paulo: Varela; 2014.

SILVA, E. P.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, M. A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil – 2005 a 2008 – **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 7, n. 77, p. 4-10, 2010.

SILVA, M. C.; GALLO, C. R. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema Simplate. **Higiene Alimentar**, v.17, p. 75-85, 2003.

SILVA, Neusely. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SOARES, L. S.; ALMEIRA, R. C. C.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; NUNES, I. L. Nunes. Knowledge, attitudes and practices in food safety and the presence of coagulase positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. **Food Control**, v. 27, p. 206 – 213, 2012.

Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - SENAC. **Guia Passo a Passo: Implantação de Boas Práticas e Sistema APPCC**. Projeto APPCC Mesa. Rio de Janeiro: Senac Press; 2002. Disponível em:
<<http://www.pas.senai.br/mesa/materiais.asp>>. Acesso em: 25 nov. 2015.

SOSPEDRA, I.; Manes, J.; SORIANO, J.M. Report of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) from *Staphylococcus aureus* isolated in food handlers and surfaces from food service establishments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 288 – 290, 2012.

STEWART, G. C. *Staphylococcus aureus*. In: Fratamico P, Bhunia A, Smith J, eds. Foodborne pathogens: microbiology and molecular biology. Norfolk, United Kingdom:

Caister Academic Press; p. 273–84, 2005.

TOMICH, R. G. P.; TOMICH, T. R.; AMARAL, C. A. A.; JUNQUEIRA, R. G.; PEREIRA, A. J. G. Metodologia para Avaliação das boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo. **Ciênc Tecnol Alim**, v. 25, n. 1, p. 115-20, 2005.

UDO, E. E.; AL-MUFTI S.; ALBERT, M. J. The prevalence of antimicrobial resistance and carriage of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from food handlers in Kuwait city restaurants. **BMC Res Notes**, v. 2, p. 108, 2009.

VASCONCELOS, N.G.; da CUNHA, M.R. Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and detection methods. **J. Public Health Epidemiol**, v.2, p.29-42, 2010.

WATTINGER, L.; STEPHAN, R.; LAYER, F.; JOHLER, S. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates associated with food intoxication with isolates from human nasal carriers and human infections. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 31, p. 455 – 64, 2012.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvido sem surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. de Biociências**, v. 8, p. 44 – 8, 2010.

World Health Organization (WHO). Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases. **FIVE KEYS TO SAFER FOOD MANUAL**. 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/5keysmanual/en/>>. Acesso em: 28 jan. 2016.

World Health Organization (WHO). **Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control**. 2008. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/outbreak_guidelines.pdf> Acesso em: 10 de fev. 2016.

World Health Organization (WHO) 2013. **Advancing food safety initiatives:**

strategic plan for food safety including foodborne zoonoses 2013–2022.

Disponível em: <www.who.int>. Acesso em: 05 fev. 2016.

3 Relatório de Campo

No projeto de pesquisa estava previsto apenas as análises microbiológicas de amostras de mãos e de preparações alimentícias, mas devido ao fato deste trabalho fazer parte de um projeto de extensão maior, foram incluídas as análises microbiológicas de amostras de ar ambiental, água e superfície de manipulação de alimentos das escolas. Assim, durante as três visitas, ao todo, foram aplicadas 15 listas de verificação e coletadas 260 amostras, sendo: 45 de superfícies de manipulação, 45 de ar ambiental, 45 de água, 51 de mãos de manipuladores e 74 de preparações alimentícias das escolas públicas municipais durante os anos de 2015 e 2016.

Houve alteração do laboratório onde foram realizadas as análises moleculares, estas ocorreram no Laboratório de Nutrigenômica e Metabologia (UFPel). Além disso, foi incluída a verificação das amostras de DNA no espectrofotômetro e a PCR para verificação do gene 16S para aferir a concentração e presença de DNA bacteriano a fim de atestar a eficiência da extração realizada nos isolados de *Staphylococcus* spp. e posterior realização da mPCR. Os produtos da PCR seriam visualizados por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídeo, mas devido as normas de segurança do laboratório onde foram realizadas as análises, utilizou-se como corante Syber Safe (Invitrogen).

Após a aprovação da dissertação pela banca examinadora, os resultados obtidos serão enviados para Secretaria Municipal de Educação a fim de contribuir para o melhoramento das unidades de alimentação e nutrição escolares.

ARTIGO 1

Título: Qualidade microbiológica e adoção de boas práticas na produção de refeições de escolas públicas do município de Pelotas

Revista: Ciência & Saúde Coletiva da Associação Brasileira de Saúde Coletiva

Qualis em Nutrição: B2

Qualis em Ciência dos Alimentos: B5

ARTIGO 2

Título: Condições higienicossanitárias no preparo da alimentação escolar e verificação da presença de genes enterotoxigênicos de *Staphylococcus* spp.

Revista: Food Control

Qualis em Nutrição: A1

Qualis em Ciência de Alimentos: A1

4 Artigo 1

Qualidade microbiológica e adoção de boas práticas na produção de refeições de escolas públicas do município de Pelotas

Jéssica Silveira Vitoria¹

Caroline Pereira das Neves²

Ana Carolina de Moraes²

Bruna Kerstner Souto²

Gabriela Venturini Antunes²

Fernanda de Rezende Pinto³

Jozi Fagundes de Mello⁴

Kelly Lameiro Rodrigues⁴

¹Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos – jessicasilveiravitoria@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Curso de Nutrição – neves_caroline@ymail.com; anacarolinaausub@gmail.com; brunaasouto@gmail.com; gabrielaventurini@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Veterinária Preventiva – f_rezendevet@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Departamento de Nutrição – jozimello@gmail.com; lameiro_78@hotmail.com

Resumo

A produção de refeições na alimentação escolar deve garantir a oferta de alimentos com adequada condição higienicossanitária, visando a proteção e promoção da saúde de crianças e adolescentes. O objetivo deste estudo foi avaliar as condições higienicossanitárias na produção de refeições em escolas municipais, por meio da aplicação de uma lista de verificação e análise microbiológica do ar ambiental, da superfície de manipulação de alimentos e da água. O estudo foi realizado em 15 escolas, onde foram aplicadas lista de verificação de adequação das boas práticas e realizadas coletas de amostras para as análises microbiológicas do ar ambiental, de superfícies da bancada de manipulação e da água. Os resultados obtidos a partir da lista de verificações apresentaram alto percentual de não conformidades, duas das 15 escolas apresentaram "situação de risco sanitário alto" e as demais foram classificadas como "situação de risco sanitário regular". A qualidade do ar ambiental na área de preparação de alimentos foi satisfatória em todas as escolas avaliadas. Do total de 45 amostras de superfícies da bancada de manipulação, 14 (31,1%) apresentaram resultados insatisfatórios para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas. Coliformes totais foram encontrados em 9 (20%) amostras de água coletadas nas torneiras das cozinhas das escolas e *E. coli* foi detectada em uma (2,2%) amostra analisada. Conclui-se que as escolas visitadas não apresentam os padrões higienicossanitários necessários para a produção de uma alimentação segura.

Palavras-chave: alimentação escolar; análise microbiológica; boas práticas de manipulação

Abstract

The meals' production in production of meals in school feeding must guarantee the supply of food with an adequate sanitary condition, aiming at the protection and promotion of the health of children and adolescents. The aim of this study was to evaluate the hygienic and sanitary conditions in the production of meals in municipal schools, through the application of a checklist and microbiological analysis of the air, food handling surface and water. The study was carried out in 15 schools, where a checklist for the adequacy of good practices was applied and samples were collected for the microbiological analyses of air, handling surfaces and water. The results obtained from the checklist showed a high percentage of unconformities, two of the 15 schools presented a "high sanitary risk situation" and all others were classified as "regular sanitary risk situations". Air quality in the food preparation area was satisfactory in all schools evaluated. From the total of 45 samples of manipulation surfaces, 14 (31.1%) presented unsatisfactory results for the count of aerobic mesophilic bacteria. Coliforms were found in 9 (20%) water samples collected in the taps of the school kitchens and *E. coli* was detected in one (2.2%) sample analysed. It is concluded that the schools visited did not reach the sanitary conditions for the production of safe food.

Keywords: school feeding; microbiological analysis; good manipulation practices.

Introdução

A produção de refeições em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) escolares deve atender às necessidades nutricionais dos alunos e ofertar alimentos seguros quanto à condição higienicossanitária visando a proteção e promoção da saúde de crianças e adolescentes^{1,2}. Para atender essa demanda, foi criado o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), que determina aos municípios planejar os cardápios, adquirir gêneros alimentícios e zelar pela qualidade dos alimentos oferecidos aos alunos³.

No Brasil, entre os anos de 2007 e 2016, dos 6.632 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) notificados, 7,9% ocorreram no âmbito escolar, mesmo com a subnotificação sendo ainda comum⁴. Apesar disso, não existe uma legislação específica para o âmbito da alimentação escolar. Atualmente a legislação brasileira dispõe do regulamento técnico de Boas Práticas (BP) que aplica-se à todos os tipos de serviços de alimentação. E segundo a legislação a primeira etapa para a implementação das BP é a aplicação de uma lista de verificação com o intuito de avaliar as não conformidades do local, sendo possível propor intervenções e planos de ação para as não conformidades observadas⁵.

Além da avaliação referente às instalações físicas, deve-se observar a veiculação de micro-organismos que podem colocar a saúde do consumidor em risco, sendo necessário avaliar constantemente as condições microbiológicas dos ambientes de preparo dos alimentos^{6,7}. Segundo Coelho et al.⁸ alguns pontos de contaminação como o ar ambiental e as superfícies de manipulação são fontes potenciais de micro-organismos que podem permitir a contaminação cruzada. A transmissão de micro-organismos para os alimentos também pode ocorrer por meio da água contaminada utilizada durante o preparo e procedimentos de higienização⁹.

Estudos realizados em escolas públicas indicaram que a higiene e a adoção das BP no ambiente escolar não se mostraram adequadas, sendo necessário monitorar toda cadeia envolvida na produção da alimentação. Os aspectos que mais contribuíram para este

desempenho inadequado compreendem aqueles referentes à edificação, instalações, controle de qualidade da água, manipuladores e condições gerais de higiene, que são determinantes à inocuidade da alimentação servida aos escolares^{1,10,11}.

O público atendido pelo PNAE compreende um grupo especial, de reconhecida suscetibilidade às DTAs e vulnerabilidade social. Considerando a inexistência de legislação sanitária específica e a necessidade de instrumentalizar o nutricionista atuante no âmbito escolar, o Centro Colaborador em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE), elaborou e validou uma lista de verificação em boas práticas para UAN escolares, utilizando como base a legislação sanitária brasileira^{1,12,13}.

Este estudo teve como objetivo avaliar as condições higienicossanitárias na produção de refeições em escolas municipais, por meio da aplicação de uma lista de verificação e análise microbiológica do ar ambiental, da água e das superfícies de manipulação de alimentos.

Métodos

Delineamento experimental e amostragem

Segundo os dados obtidos na Secretaria Municipal de Educação, a cidade de Pelotas tem 31 escolas municipais em funcionamento, entre educação infantil e educação fundamental. Neste estudo foram avaliadas 15 escolas escolhidas por sorteio, representando 50% do total. Em cada escola foi aplicada a lista de verificação de adoção das boas práticas e coletadas amostras do ar ambiental, superfície da bancada de manipulação de alimentos e da água.

Com autorização da Secretaria Municipal de Educação, foram realizadas três visitas, entre setembro de 2015 e agosto de 2016, nos turnos da manhã e tarde, nos horários de preparação ou distribuição das refeições, permitindo assim, uma avaliação global dos procedimentos adotados.

Avaliação da adoção das Boas Práticas

Utilizou-se como instrumento de avaliação, uma lista de verificação em Boas Práticas validada para UAN escolares, elaborada pelo CECANE das Universidades Federais do Rio Grande do Sul (UFRGS) e de São Paulo (UNIFESP), com o apoio financeiro do Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE). A coleta de dados foi realizada por meio de observação direta no local, questionamentos aos funcionários e/ou direção da escola e análise da documentação do estabelecimento. Conformidades foram computadas como “sim”, não conformidades como “não”, e itens não pertinentes à avaliação como “não aplicável”. A lista de verificação era composta por 99 questões distribuídas em seis blocos temáticos: edifícios e instalações da área de preparo de alimentos, equipamentos para temperatura controlada, manipuladores, recebimento, processos e produções e higienização ambiental.

Para cada uma das questões da lista de verificação foram atribuídas notas que variaram de zero a oito e para cada um dos blocos foi estipulado um peso (k, igual a 10, 15, 25 ou 30) conforme o grau de risco e importância para a segurança dos alimentos. Todas as respostas assinaladas na alternativa “não”, que caracterizam a não conformidade do item receberam a nota zero. Para o cálculo dos pontos obtidos em cada bloco da lista de verificação foi aplicada a seguinte fórmula:

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

Onde:

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

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

P_x: Pontuação máxima possível no bloco X

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

k_x: Peso atribuído ao bloco X

Após o cálculo de pontos obtidos em cada um dos blocos (PB), os resultados foram somados. Com base nessa pontuação cada escola foi classificada de acordo com o grau de risco

sanitário: situação de risco sanitário muito alto (0 a 25 pontos); situação de risco sanitário alto (26 a 50 pontos); situação de risco sanitário regular (51 a 75 pontos); situação de risco sanitário baixo (76 a 90) e situação de risco sanitário muito baixo (91 a 100 pontos)¹².

Coleta das amostras para análise microbiológica

Em cada escola (n=15) foram realizadas 3 visitas, e em cada uma delas foi coletada uma amostra do ar ambiental (n=45), por meio da técnica de sedimentação simples, onde placas de Petri contendo ágar para contagem total (PCA) e ágar batata dextrose (BDA) foram abertas e expostas ao ambiente por 15 minutos, e uma amostra da superfície de bancada de manipulação dos alimentos por meio de um esfregão de suabe em uma área de 50 cm² (n=45). As amostras foram identificadas e transportadas sob refrigeração imediatamente após a coleta até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) para execução das análises.

As amostras de água (n=45) foram coletadas da torneira das cozinhas, cerca de 100 mL em embalagens plásticas esterilizadas, de acordo com o descrito no APHA¹⁴ e foram encaminhadas ao laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da UFPel para serem analisadas.

Análises microbiológicas

Para a análise microbiológica do ar ambiental, as placas de Petri foram incubadas a 37 °C por 48 horas para contagem de bactérias aeróbias mesófilas e a 25 °C por 5 dias para contagem de bolores e leveduras, sendo realizadas a contagem de colônias características após esse período^{15,16}.

Para a análise microbiológica da superfície de bancada de manipulação foi realizada contagem de coliformes termotolerantes, inoculando-se as amostras e diluições em placas de Petri, e após vertido Ágar Bile Vermelho Violeta Lactose, as placas foram incubadas a uma

temperatura de 35 °C por 48 horas. Das placas que apresentaram colônias típicas foram selecionadas quatro para serem repicadas em Caldo *Escherichia coli* (EC), incubadas a 45 °C em banho-maria por 48 horas, para confirmação de coliformes termotolerantes. Para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, as amostras e diluições foram inoculadas em placas de Petri, vertido ágar PCA e as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas para posterior contagem das colônias¹⁶.

Para a avaliação microbiológica da água, utilizou-se a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* por meio do método de substrato cromogênico¹⁴. Dez tubos de vidro contendo meio de cultura com substrato enzimático cromogênico fluorescente foram inoculados com a amostra. Após 24 horas de incubação a 36 °C, contando-se o número de tubos que apresentaram coloração verde-azulada e com ajuda de uma tabela específica, foi determinado o NMP por 100 mL de amostra de coliformes totais. Contando-se o número de tubos que apresentaram coloração azul fluorescente ao incidir luz ultravioleta a 366 nm de comprimento de onda, foi determinado o NMP por 100 mL de amostra de *Escherichia coli*.

Resultados e Discussão

Avaliação da adoção das boas práticas

Das 15 escolas avaliadas, duas (13,3%) apresentaram situação de risco sanitário alto, enquanto as demais apresentaram situação de risco sanitário regular (Tabela 1). Cardoso et al.¹ também encontraram inadequações ao avaliar 235 escolas atendidas pelo PNAE na cidade de Salvador, Brasil, onde 57,0% (n=134) das unidades apresentaram condições insatisfatórias e 42,6% (n=100) mostraram-se regulares em relação aos itens avaliados por meio da RDC N° 216/04 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Tabela 1. Percentual de adequação por bloco de avaliação e situação de risco sanitário das escolas municipais. Pelotas, 2017.

Escolas	Classificação por bloco (%)						Pontuação final
	Bloco 1	Bloco 2	Bloco 3	Bloco 4	Bloco 5	Bloco 6	
1	50,5	45,4	66,6	100	45,3	61,9	58,3 (regular)
2	55,4	42,8	75,0	100	38,4	56,7	57,9 (regular)
3	70,9	46,6	50,0	100	34,5	50,0	51,9 (regular)
4	74,7	46,6	75,0	100	41,3	50,0	60,6 (regular)
5	26,8	20,0	46,1	100	29,7	40,5	40,2 (alto)
6	68,3	46,6	84,6	100	49,1	54,7	65,2 (regular)
7	60,7	46,7	50,0	100	39,2	54,7	52,8 (regular)
8	41,3	46,6	75,0	100	54,2	59,2	62,1 (regular)
9	57,1	46,6	33,3	100	40,8	57,1	49,0 (alto)
10	74,0	33,3	58,3	100	40,8	59,5	55,2 (regular)
11	55,7	33,3	50,0	100	45,1	52,4	51,8 (regular)
12	67,1	46,6	83,3	100	42,9	53,6	62,8 (regular)
13	68,8	46,6	83,3	100	43,9	54,7	63,3 (regular)
14	46,8	33,3	58,3	100	45,4	57,1	53,6 (regular)
15	63,3	46,6	75,0	100	39,2	50,0	58,8 (regular)

Bloco 1: Edifícios e Instalações da Área de Preparo de Alimentos; Bloco 2: Equipamentos para Temperatura Controlada; Bloco 3: Manipulador; Bloco 4: Recebimento; Bloco 5: Processos e Produções; Bloco 6: Higienização Ambiental.

Em relação ao Bloco 4 (Recebimento), todas as escolas estavam em situação de risco sanitário muito baixo, no que se refere aos procedimentos relacionados ao transporte e recebimento de matéria-prima, verificação das características do alimento (aparência, cor, odor, textura, consistência entre outros), embalagem e prazo de validade. Segundo Silva & Cardoso¹⁷, o recebimento dos alimentos constitui um ponto crucial de controle na cadeia produtiva e a deficiência no seu monitoramento pode comprometer a qualidade das demais etapas do processo e a inocuidade do produto final.

Em 86,7% (n=13) das escolas avaliadas, os manipuladores entrevistados afirmaram já

ter participado de algum treinamento em BP realizado pela Secretaria Municipal de Educação, no entanto, o Bloco 5 relativo aos Processos e Produções que se refere a aspectos como a higiene adequada das mãos e dos alimentos, armazenamento de matéria-prima e controle e registros, caracterizou 93,3% (n=14) das escolas como situação de risco sanitário alto. Cunha et al.¹¹, concluíram que, mesmo os manipuladores que receberam treinamento realizavam de forma incorreta o procedimento de higiene de mãos, ou seja, treinamentos enriquecem o conhecimento, porém nem sempre garantem efeitos nas atitudes e práticas.

Pode-se observar que na maioria das escolas o espaço físico não foi construído para atender as necessidades de um serviço de alimentação, sendo que muitos locais foram adaptados sem a correção necessária nas inadequações das instalações físicas e do ambiente. Assim, parte do não cumprimento das BP pelos manipuladores de alimentos pode ser atribuído à falta de estrutura adequada no local de trabalho, pois em nenhuma das escolas havia lavatório equipado e exclusivo para a higiene adequada das mãos. Segundo Mezzari & Ribeiro¹⁸, a detecção rápida e a correção das falhas durante o processamento dos alimentos, assim como a adoção de medidas preventivas, são as principais estratégias para que se tenha a garantia de um alimento seguro, onde o treinamento periódico dos manipuladores apresenta papel crucial, pois são os responsáveis diretos pelo preparo da alimentação escolar.

A avaliação do Bloco 2, referente aos Equipamentos para Temperatura Controlada, também demonstra situação de risco sanitário alto ou muito alto em todos os locais. Isso se deve principalmente porque o controle da temperatura durante o armazenamento não era realizado em nenhuma das unidades escolares investigadas, pois não havia termômetro nos locais e os equipamentos não possuíam medidores de temperatura, conforme preconizado pela legislação. A falta de controle de tempo e de temperatura na conservação da alimentação escolar tem sido relatada em diferentes estudos, e esse controle ao longo da cadeia alimentar pode impedir o risco da multiplicação microbiana a níveis de risco^{1,19,20}.

Avaliação microbiológica

Na avaliação do ar ambiental todos os resultados foram satisfatórios para contagens de bolores e leveduras e bactérias mesófilas aeróbias, de acordo com a recomendação da APHA, que considera ambientes adequados ao processamento de alimentos aqueles que apresentam contagem de ambos micro-organismos até 30 UFC/minuto¹⁴ (Tabela 2).

Tabela 2 Resultado das análises microbiológicas de ar ambiental das escolas municipais. Pelotas, 2017.

Escolas	Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/min) ¹			Bolores e leveduras (UFC/min) ¹		
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
1	0,40	1,13	2,26	0,07	0,13	0,33
2	1,67	1,06	0,73	< 0,07	0,06	0,60
3	0,87	1,13	1,06	0,40	0,13	0,06
4	0,27	2,33	3,13	0,33	0,40	0,26
5	2,53	5,86	2,00	0,07	0,13	0,53
6	9,00	0,73	1,33	1,13	0,20	0,40
7	0,07	4,46	8,00	0,07	0,13	0,60
8	1,07	6,60	10,6	< 0,07	0,53	< 0,07
9	19,20	9,26	3,40	0,53	1,33	0,26
10	2,67	1,46	16,6	0,73	0,73	0,86
11	1,53	2,60	1,53	1,80	3,26	0,40
12	0,40	10,8	0,40	0,33	0,93	0,26
13	11,93	3,00	0,46	0,40	0,33	0,53
14	2,47	0,53	4,46	0,2	1,06	0,33
15	9,06	1,26	0,33	0,40	1,06	1,50

Legenda: ¹UFC/min: Unidade Formadora de Colônias por minuto.

Apesar dos resultados estarem adequados, nenhuma das escolas fazia uso de barreiras físicas, como telas nas janelas ou portas de proteção e separação física das distintas áreas de manipulação de alimentos, o que poderia facilitar a contaminação cruzada e a entrada de insetos e vetores. Esse resultado difere de outros estudos nos quais foram encontrados níveis elevados

de contaminação do ar ambiental, onde os autores apontam como possível causa as insuficiências observadas na estrutura física das escolas e salientam a importância de investimentos na área^{13,21}.

Do total de 45 amostras de superfícies de manipulação de alimentos, 14 (31,1%) apresentaram resultados insatisfatórios para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas. Todas as amostras apresentaram resultado satisfatório para contagens de coliformes termotolerantes (Tabela 3), uma vez que para ambos micro-organismos é considerado resultado satisfatório quando há contagens menores ou iguais a 50 UFC/cm²⁷. Este resultado pode ser atribuído ao fato de que na maioria das escolas as superfícies das bancadas de manipulação de alimentos eram constituídas de material inadequado, ou seja, não eram lisas, impermeáveis, laváveis e isentas de rugosidades, o que compromete a higienização das mesmas, tornando-as fontes de contaminação.

A legislação brasileira não estabelece padrões microbiológicos para bactérias aeróbias mesófilas em superfície de manipulação de alimentos. Para Silva Júnior⁷, que estabeleceu a recomendação utilizada, essas bactérias estão presentes no ambiente, portanto são indicadores das condições higienicossanitárias do local de produção. Assim, deve-se manter higienizadas as superfícies destinadas ao preparo dos alimentos, pois podem ser um reservatório de micro-organismos e potencial fonte de contaminação do alimento produzido, especialmente se o mesmo for consumido cru ou se durante o aquecimento não atingir a temperatura adequada.

Tabela 3 Resultado das análises microbiológicas de superfície de bancadas de manipulação de alimentos de escolas. Pelotas, 2017.

Escolas	Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/cm ²) ¹			Coliformes termotolerantes (UFC/cm ²) ¹		
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
1	8,40	4,60	3,4	< 0,02	< 0,02	< 0,02
2	3,2 x 10	9,90	1,6 x 10	< 0,02	< 0,02	< 0,02
3	4,8 x 10	1,3 x 10 ²	0,4	< 0,02	< 0,02	< 0,02
4	1,70	5,8 x 10	1,7 x 10 ²	< 0,02	< 0,02	< 0,02
5	0,15	1,3 x 10 ²	9,0	< 0,02	< 0,02	< 0,02
6	0,62	< 0,02	1,1 x 10 ³	< 0,02	< 0,02	< 0,02
7	4,90	8 x 10 ²	1,8 x 10	0,73	< 0,02	< 0,02
8	0,16	< 0,02	1,3 x 10	< 0,02	< 0,02	< 0,02
9	4,5 x 10	> 1,3 x 10 ⁵ est.	5,2 x 10	< 0,02	3,8 x 10	< 0,02
10	< 0,02	1,20	7,10	< 0,02	< 0,02	< 0,02
11	1,9 x 10	1,3 x 10 ²	2,2 x 10	0,43	9,4	< 0,02
12	1 x 10	8,4 x 10	1,2 x 10	6,60	< 0,02	< 0,02
13	8,70	1 x 10 ²	1,1 x 10 ²	3,92	< 0,02	< 0,02
14	< 0,02	1,4 x 10	1,50	< 0,02	< 0,02	< 0,02
15	4,5 x 10	6,6 x 10	9,8 x 10 ²	< 0,02	< 0,02	2,4 x 10

Legenda: ¹UFC/cm²: Unidade Formadora de Colônias por centímetro quadrado de superfície. est: estimado.

Os padrões microbiológicos da água para consumo humano são de ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*) em 100 mL²². Coliformes totais foram encontrados em nove (20%) amostras de água coletadas nas torneiras das cozinhas das escolas, e *E. coli* foi detectada em uma (2,2%) amostra analisada (Tabela 4).

Em três (20%) das 15 escolas a contaminação persistiu, ou seja, em mais de uma visita a água coletada encontrou-se imprópria para consumo. Uma vez que a água é empregada em diversos procedimentos nos serviços de alimentação, a não conformidade nos padrões microbiológicos aumenta a possibilidade de contaminação cruzada dos alimentos que serão consumidos crus, além de prejudicar a higienização de mãos e superfícies de manipulação.

Tabela 4 Análise microbiológica da água coletada em escolas municipais. Pelotas, 2017.

Escolas	Coliformes totais (NMP/ 100 ml)			<i>E. coli</i> (NMP/ 100 ml)		
	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
1	presença	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
2	ausência	presença	ausência	ausência	ausência	ausência
3	presença	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
4	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
5	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
6	ausência	presença	presença	ausência	ausência	ausência
7	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
8	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
9	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
10	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
11	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
12	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
13	presença	presença	ausência	presença	ausência	ausência
14	ausência	presença	presença	ausência	ausência	ausência
15	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência

Legenda: ¹NMP/100 ml: Número mais provável em 100 ml.

Embora a higienização semestral das caixas da água tenha sido relatada em 80% (n=12) das escolas, a técnica utilizada para a higiene pode ter sido incorreta. A presença desses micro-organismos indica uma possível contaminação fecal nos reservatórios e a necessidade de manutenção para que a água atinja os padrões sanitários ideais. Além disso, outras possíveis causas devem ser consideradas: a contaminação da água de abastecimento, em virtude de falhas no tratamento e na distribuição, e até mesmo a contaminação no encanamento da própria escola.

Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo com 35 escolas da rede pública da cidade do Recife (PE), onde foram identificadas 13 (37%) amostras de água impróprias para o consumo de acordo com os padrões microbiológicos de potabilidade, contendo coliformes termotolerantes e *E. coli*²³. Rocha et al.²⁴ analisaram instituições de ensino

do município de Teixeira de Freitas (BA), e das 36 escolas avaliadas 9 (25%) apresentaram-se em desacordo.

Conclusão

Os resultados obtidos pela aplicação da lista de verificação mostraram elevado risco sanitário, principalmente em relação aos equipamentos para temperatura controlada e processos e produção dos alimentos. As análises microbiológicas realizadas nas superfícies de bancada de manipulação indicaram inadequações, assim como na água utilizada para o preparo e higiene de alimentos, instalações e manipuladores. É possível concluir que de uma maneira geral, as escolas visitadas não atingiram os padrões higienicossanitários adequados para a produção de uma alimentação segura.

Referências

1. Cardoso RCV, Almeida RCC, Guimarães AG, Góes JAW, Santana AAC, Silva SA, Vidal Junior PO, Huttner LB, Figueiredo KVNA. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2010; 69(2): 208-213.
2. World Health Organization (WHO). WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007 – 2015. Geneva: WHO; 2015.
3. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE). *Cartilha Nacional da Alimentação Escolar*. Brasília; 2015.
4. Brasil. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Ministério da Saúde [periódico na Internet] 2016 Jun [acessado 2016 Dez 05] [cerca de 19 p.]. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA->

2016.pdf

5. Brasil. Resolução RDC nº 216 de 15 de Setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Diário Oficial da União*; 16 set.
6. World Health Organization (WHO). *Foodborne disease outbreaks: Guidelines for investigation and control*. Genebra, Suíça; 2008.
7. Silva Júnior EA. *Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação*. 7. ed., São Paulo: Varela; 2014.
8. Coelho AIM, Milagres RCRM, Martins JFL, Azeredo RMC, Santana AMC. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. *Cien Saude Colet* 2010; 15(20):1597-1606.
9. Sousa CP. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimento. *Rev de APS* 2006;9(1)83-8.
10. Souza PA, Santos DA. Microbiological risk factors associated with food handlers in elementary schools from Brazil. *J Food Saf* 2009; 29:424–429.
11. Cunha DT, Stedefeldt E, Rosso VV. Boas práticas e qualidade microbiológica nos serviços de alimentação escolar: uma revisão sistemática. *Rev Bras Pesq Saúde* 2012; 14(4):108-121.
12. Centros Colaboradores em Alimentação e Nutrição do Escolar (CECANE). *Guia de Instruções das Ferramentas para as Boas Práticas na Alimentação Escolar*. Brasília: CECANE UFRGS/ CECANE UNIFESP; 2013.
13. Trindade SNC, Pinheiro JS, Almeida HG, Pereira KC and Sobrinho PSC. Bacteriological quality and food safety in a Brazilian school food program. *Nutr Hosp* 2014; 29(1):80-87.
14. American Public Health Association (APHA). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. New York: APHA; 1998.
15. Sveum W, Morberg L, Rude RA, Frank JF. *Microbiological monitoring of the food-processing environment*. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of

- Foods. Washington, DC: American Public Health Association (APHA); 1992. 3 Ed. p. 51–74.
16. Food and Drug Administration (FDA). *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. Gaithersburg: AOAC International [manual on the Internet] 2001 [cited 2016 Jun 08]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>
17. Silva VB, Cardoso RCV. Controle da qualidade higiênico-sanitária na recepção e no armazenamento de alimentos: um estudo em escolas públicas municipais de Salvador, Bahia. *Seg Alim e Nut* 2011; 18(1): 43-57.
18. Mezzari MF, Ribeiro AB. Avaliação das condições higienico-sanitárias da cozinha de uma escola municipal de Campo Mourão - Paraná. *Rev. Saúde e Biol* 2012 7(3)60-66.
19. Rosa MS, Negreiros SRF, Seabra LMJ, Stamford TLM. Monitoramento de tempo e temperatura de distribuição de preparações à base de carne em escolas municipais de Natal (RN), Brasil. *Rev Nutr*. 2008; 21(1)21-28.
20. Rodriguez M, Valero A, Carrasco E, Pérez-Rodríguez F, Posada GD, Zurera G. Hygienic conditions and microbiological status of chilled Ready-To-Eat products served in Southern Spanish hospitals. *Food Control* 2011; 22(6)874-882.
21. Kochansky S, Pierozan MK, Mossi AJ, Treichel H, Cansian RL, Ghisleni CP. et al. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. *Alimentos e Nutrição* 2009; 20(4)663-668.
22. Brasil. Portaria N° 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Ministério da Saúde 2011.
23. Feitosa Neto A, Silva JL, Moura GJB, Calazans GMT. Avaliação da qualidade da água potável de escolas públicas do Recife, PE. *Rev. Hig. Alimentar* 2006; (20)139:80-2.
24. Rocha ES, Rosico FS, Silva FL, Luz TCS, Fortuna JL. Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). *Rev*

Baiana de Saúde Pública 2010; 34(3)694-705.

5 Artigo 2

Condições higienicossanitárias no preparo da alimentação escolar e verificação da presença de genes enterotoxigênicos de *Staphylococcus* spp.

JÉSSICA SILVEIRA VITORIA¹; GABRIELA VENTURINI ANTUNES²; BRUNA KERSTNER SOUTO²; CAROLINA PEREIRA DAS NEVES²; JOZI FAGUNDES DE MELLO³; KELLY LAMEIRO RODRIGUES³

¹Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos – jessicasilveiravitoria@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Curso de Nutrição – gabrielaventurini@hotmail.com; brunaasouto@gmail.com; neves_caroline@ymail.com

³Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Nutrição, Departamento de Nutrição – jozimello@gmail.com; lameiro_78@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar as condições higienicossanitárias de mãos de manipuladores de alimentos e de preparações alimentícias de escolas municipais e verificar a presença de genes produtores de enterotoxinas clássicas (A, B, C, D e E) nos isolados de *Staphylococcus* spp. Foram realizadas três visitas em cada escola, e em cada uma delas foram coletadas as amostras de mãos de manipuladores (n=51) para análise de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp. e amostra de pelo menos uma preparação alimentícia (n=74), sendo realizadas análises de coliformes termotolerantes, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp. Entre as amostras de mãos de manipuladores, 11 (21,5%) apresentaram contagem acima do recomendado para *Estafilococos* coagulase positiva e duas (3,92%) apresentaram contagem elevada para coliformes termotolerantes. Entre as amostras de alimentos, 16,21% (n=12) apresentaram contagem acima do permitido pela legislação brasileira para *Estafilococos* coagulase positiva e quatro (5,4%) para coliformes termotolerantes. *Salmonella* spp. e *Bacillus cereus* não foram encontrados em nenhuma das amostras. Entre os isolados de *Staphylococcus* spp. (23 ECP e 34 ECN) submetidos à técnica de reação em cadeia da polimerase multiplex, enterotoxina estafilocócica B foi encontrada em 3 (5,26%) isolados de *Estafilococos* coagulase positiva e negativa, provenientes da mesma escola, sendo duas amostras de manipuladores e uma de arroz com carne moída. As condições higienicossanitárias

das escolas mostraram-se inadequadas para as análises microbiológicas. Além disso, foi verificada a presença de genes produtores de enterotoxina estafilocócica clássicas em três isolados de *Staphylococcus* spp.

Palavras Chave: alimentação escolar, segurança de alimentos, manipuladores de alimentos, multiplex PCR, enterotoxina estafilocócica.

Introdução

O direito à alimentação adequada, do ponto de vista nutricional e higienicossanitário, em que os padrões de qualidade e de segurança dos alimentos devem ser cumpridos, está previsto pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), que no ano de 2016 atendeu 40,3 milhões de escolares em todo território brasileiro (FNDE, 2016). A alimentação escolar é destinada à uma população com um risco aumentado para doenças transmitidas por alimentos (DTA). E apesar da existência de regulamentações específicas, as medidas de segurança tomadas durante a preparação dos alimentos não estão completamente adequadas, uma vez que a maioria das escolas não atende aos requisitos sanitários necessários nos processos de preparação alimentar (SANTANA et al., 2009; CASTRO et al., 2016).

A manipulação incorreta dos alimentos, comumente associada à higiene deficiente dos manipuladores, incluindo a higiene das mãos, é um dos fatores frequentemente envolvidos como causa da contaminação alimentar (GREIG et al., 2007; AGUIAR & KRAEMER, 2010; KAMAL et al., 2013). Isso ocorre devido a frequente presença de micro-organismos patogênicos nas mãos de manipuladores de alimentos (SHOJAEI, 2006; LUES & Van TONDER, 2007).

Staphylococcus spp. é um micro-organismo comumente encontrado na microbiota da pele humana e vias nasais, sendo transportado por uma porção significativa da população. Através da produção de enterotoxinas, Estafilococos coagulase negativa (ECN) e coagulase positiva (ECP) isolados de manipuladores podem causar intoxicação alimentar quando presentes nos alimentos (HANSON et al., 2011; SILVA et al., 2015). Dentre as enterotoxinas produzidas, as enterotoxinas estafilocócicas (EEs) clássicas (A, B, C, D e E) são responsáveis por 95% dos surtos (PELES, et al., 2007; CHIANG et al., 2008; CASTRO et al., 2016). Assim, o papel do manipulador na preparação dos alimentos é crucial para garantir a produção de alimentos seguros. Seu conhecimento, atitudes e práticas desempenham um papel

importante na ocorrência de casos de DTA (PATIL et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar as condições higienicossanitárias de mãos de manipuladores de alimentos e de preparações alimentícias de escolas municipais de Pelotas - RS. Além disso, verificar a presença de genes produtores de EEs clássicas (A, B, C, D e E) nos isolados de *Staphylococcus* spp.

Materiais e Métodos

Amostragem

Este estudo foi realizado em Unidades de Alimentação e Nutrição (UANs) de escolas municipais de educação infantil e fundamental atendidas pelo PNAE no município de Pelotas - RS. Segundo os dados obtidos na Secretaria Municipal de Educação (SMED), durante o período da coleta, 31 escolas municipais estavam em funcionamento, sendo avaliadas 50% do total (n=15) escolhidas por meio de sorteio.

Foram realizadas três visitas, entre setembro de 2015 e agosto de 2016, nos turnos da manhã e tarde, nos horários de preparação e/ou distribuição das refeições. Os manipuladores de alimentos que aceitaram fazer parte da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos com o protocolo 958.126 de 28/01/2015.

Em cada visita, foram coletadas amostras das mãos dos manipuladores (n=51), por meio da técnica de esfregaço de suabe umedecido com água peptonada, passado de forma angular com movimentos giratórios nas duas mãos imediatamente após a higienização e posteriormente foram realizadas análises de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* spp.

Foram coletados em torno de 100g de pelo menos uma preparação alimentícia (n=74), e estas foram acondicionadas em embalagem estéril, identificadas e transportadas sob refrigeração imediatamente após a coleta até o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas. Foram realizadas análises de coliformes termotolerantes, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp., de acordo com a metodologia recomendada no *Bacteriological Analytical Manual* (FDA, 2001).

Para a análise dos resultados, os alimentos servidos nas escolas foram agrupados de acordo com a classificação hierárquica de risco de veiculação de agentes causadores de surtos de DTA, segundo Greig e Ravel (2009).

Análises Microbiológicas

A contagem de coliformes termotolerantes nas amostras das mãos foi realizada pelo método de plaqueamento por profundidade com Ágar Bile Vermelho Violeta Lactose (VRB) em dupla camada e as placas incubadas a 35°C/48h. Colônias típicas foram selecionadas para o repique em Caldo *Escherichia coli* (EC) e incubadas a 45°C/48h, para confirmação de coliformes termotolerantes.

Para o isolamento de *Staphylococcus* spp. de mãos e de alimentos foi utilizada a técnica de espalhamento em superfície em Agar Baird Parker (ABP) com emulsão gema de ovo e telurito de potássio e as placas incubadas a 37°C/48 h. Foram selecionadas duas colônias presuntivas típicas e duas atípicas e submetidas à coloração de Gram e ao teste da coagulase, sendo considerados positivos quando houve formação de coágulo e negativos quando não houve. Todos isolados ECP e ECN foram armazenados e submetidos à análise molecular para verificação da presença de genes das EE.

Para a quantificação de coliformes termotolerantes nos alimentos foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP) com o teste presuntivo no Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) contendo tubos de fermentação e incubação a 35°C/48h. De cada tubo positivo (turvação e formação de gás) foi transferida uma alçada para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC) e tubos de Durham invertidos a 45°C/48 horas. Resultados de tubos positivos do caldo EC foram utilizados para estimar as contagens de coliformes termotolerantes com o auxílio da tabela do NMP.

Para a contagem de *Bacillus cereus* em alimentos foi utilizada a técnica de espalhamento em superfície em Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) com placas incubadas a 32°C/24 h. Colônias típicas foram confirmadas pelo teste rápido de Holbrook & Anderson.

Para pesquisa de *Samonella* spp., inicialmente foi realizado um pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada incubando-se a 37°C/24h. Após, foi realizado o enriquecimento seletivo nos caldos Tetrionato e Rappaport-Vassiliadis, ambos seguidos de incubação a 42°C/24h. A partir destes caldos foi realizado o plaqueamento nos meios de enriquecimento seletivo Ágar Hektoen (HE) e Ágar Xilose-lisina-desoxicolato (XLD), seguidos de incubação a 37°C/24h. Colônias consideradas características para HE e XLD foram submetidas a testes bioquímicos com Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), Ágar Lisina Ferro (LIA) e teste de urease e

testes sorológicos com soro polivalente anti-*Salmonella*.

Verificação da presença de genes codificadores de enterotoxinas estafilocócicas

O DNA cromossomal foi extraído de 57 isolados de *Staphylococcus* spp. (23 ECP e 34 ECN) utilizando kit comercial (PureLink Genomic DNA – K1820-01, Invitrogen®). Para verificar a concentração e presença do DNA bacteriano extraído, foram realizadas leituras de todas as amostras por meio de espectrofotômetro e posteriormente a amplificação do gene rRNA 16S utilizando primers universais 27F (5'-AGATTTGATCMTGGCTCAG-3') e 1492R (5'- TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (LANE, 1991). Foram preparadas reações contendo 17 µL de mistura especial para PCR (GoTaq- Promega, Madison, WI USA), 1 µL de cada primer, 1 µL da amostra de DNA e 1 µL de água ultrapura (Milli-Q), totalizando 20 µL de volume final. A PCR foi realizada em termociclador utilizando o seguinte protocolo térmico: desnaturação inicial de 95°C durante 5 minutos, 35 ciclos (95°C – 0,5'; 50°C – 1' e 72°C – 1') e extensão final a 72°C por 7min. Os produtos amplificados pela PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1% corado com Syber Safe (Invitrogen®).

O DNA extraído dos *Staphylococcus* spp. foram submetidos à técnica de reação em cadeia da polimerase multiplex (mPCR) a fim de verificar a presença dos genes codificadores de EEs A, B, C, D e E. Os primers para identificação dos genes das EEs foram os definidos por Mehrotra, Wang, & Johnson (2000). Foram preparadas reações contendo 50 µl de PCR SuperMix (Invitrogen®), 3 µl da combinação de primers de acordo com Mehrotra, Wang, & Johnson (2000) e 2µl da amostra de DNA, totalizando 55 µl de volume final. A PCR foi realizada em termociclador utilizando o seguinte protocolo térmico: desnaturação inicial de 94°C durante 5 minutos, 35 ciclos (94°C – 2'; 54°C – 2' e 72°C – 1') e extensão final a 72°C por 7min.

Os produtos da PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 2% (Invitrogen) corado com Syber Safe (Invitrogen), em tampão TBE 0,5X, sob luz ultravioleta e fotografados (Kodak Digital Science™ DC120). O controle negativo das reações consistiu da mesma composição da reação de PCR, porém com água Milli-Q estéril no lugar do DNA. Foram utilizados DNAs de *Staphylococcus aureus* ATCCs 13565 (SEA), 14458 (SEB), 19095 (SEC), 23235 (SED) e 21664 (SEE) como controles positivos.

Resultados e Discussão

Entre as 51 amostras de mãos de manipuladores de alimentos, 11 (21,5%) apresentaram contagem de ECP acima do recomendado e duas (3,92%) apresentaram presença de coliformes termotolerantes. No Brasil não existe uma legislação com recomendações para limites microbiológicos para mãos, por isso utilizou-se o recomendado por Silva (2010), que considera satisfatório para ECP até 10^2 UFC/mão e ausência de coliformes termotolerantes (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas, que apresentaram contagem acima do recomendado, realizadas nas mãos dos manipuladores de alimentos de escolas municipais. Pelotas, 2017.

Manipulador	Estafilococos coagulase positiva (UFC/mão) ¹
1	$1,7 \times 10^3$
2	$7,4 \times 10^3$
3	$1,4 \times 10^2$
4	8×10^3
5	$9,9 \times 10^4$
6	$6,2 \times 10^4$
7	$7,5 \times 10$
8	$1,3 \times 10^2$
9	1×10^3
10	7×10^3
11	$1,6 \times 10^2$
Coliformes termotolerantes (UFC/mão) ¹	
12	$1,3 \times 10^2$
13	$1,5 \times 10^2$

Legenda: ¹UFC/mão: Unidade Formadora de Colônias por mão.

Resultado semelhante foi encontrado em um estudo realizado em 28 creches municipais da cidade de Juazeiro do Norte - CE, onde *S. aureus* esteve presente em 14,29% das amostras de mãos de manipuladores de alimentos (OLIVEIRA & GONÇALVES, 2015). Cunha et al. (2012) ao realizarem uma revisão sistemática da literatura, em relação à análise microbiológica de mãos de manipuladores, observaram a presença principalmente de *S. aureus*. Campos et al. (2009), observaram práticas inapropriadas de lavagem das mãos em manipuladores de 27 escolas municipais de Natal - RN, detectando coliformes termotolerantes em 55,6% das amostras, onde a incorreta higiene das mãos refletiu significativamente na contaminação encontrada.

Durante as visitas às escolas da cidade de Pelotas - RS, foi possível observar a ausência de local exclusivo e adequado para a correta higienização das mãos, falha esta que poderia facilitar a contaminação por micro-organismos. Estudos apontam higiene inadequada de mãos e contato com as mãos desprotegidas em alimentos prontos para o consumo como principais causas de surtos alimentares (CDC, 2007; CUNHA et al., 2012; TAN et al., 2013). Tan et al. (2013) averiguaram que mesmo os manipuladores que passavam por programas de treinamento realizavam de forma incorreta o procedimento de higiene de mãos, ainda relataram que 89,4% dos manipuladores de alimentos afirmaram sempre praticar procedimentos adequados de lavagem das mãos, porém, observaram que 100% dos manipuladores de alimentos não higienizavam as mãos utilizando técnicas adequadas.

Foram coletadas 74 amostras de alimentos produzidos e servidos nas escolas de Pelotas - RS. O número de amostras coletadas por escola variou de acordo com as preparações servidas. Segundo a classificação proposta por Greig e Ravel (2009), o maior número de amostras coletadas nas escolas de Pelotas foi classificada no grupo de bolos, bolachas, biscoitos e pães, seguido do grupo de frutas e verduras (Tabela 2).

Tabela 2. Alimentos coletados nas escolas municipais, distribuídos de acordo com a classificação proposta por Greig e Ravel (2009). Pelotas, 2017.

Categorias (Nº de preparações coletadas)	Subcategorias (Nº de preparações coletadas)
Carne Bovina (2)	Carne moída (1) Carne com molho (1)
Produtos Lácteos (15)	Leite (2) Leite com achocolatado (8) Café com leite (5)
Multi-ingredientes Produtos lácteos (4)	Arroz com leite (2) Leite com cereal (1) Sagu com leite (1)
Frutas e Verduras (10)	Salada de alface e bergamota (1) Couve-flor (1) Beterraba (1) Banana (2) Bergamota (3) Goiaba (1) Cenoura (1)
Cereais e Leguminosas (9)	Arroz (1) Feijão (6) Cereal doce (2)
Multi-ingredientes cereais e carnes (6)	Massa com carne (3) Arroz com carne moída (1) Pão com frango (1) Risoto de frango (1)
Bebidas (6)	Suco de fruta em pó (5) Café (1)
Bolos, bolachas, biscoitos e pães (20)	Bolo (2) Bolacha doce (7) Bolacha salgada (6) Cuca (3) Pão (2)
Doces sem leite (2)	Sagu (2)
Total	74

Todos os alimentos analisados apresentaram ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de alimento e contagem de *Bacillus cereus* dentro do permitido pela legislação brasileira (10^3 UFC/g) (BRASIL, 2001). A Tabela 3 expõe os alimentos que apresentaram contagem acima do permitido para ECP, onde 16,21% (n=12) do total de amostras estavam inadequadas, sendo que três escolas apresentaram contaminação em mais de um alimento (BRASIL, 2001). A legislação brasileira não prevê padrões microbiológicos para contagem de ECP em frutas frescas, como a bergamota, e suco em pó, entretanto esses alimentos apresentaram contagens entre $1,3 \times 10^2$ e $6,9 \times 10^4$ UFC/g, o que pode ser considerado elevado.

Tabela 3. Contagem de Estafilococos coagulase positiva (ECP) acima do permitido em amostras de alimentos coletadas em escolas municipais. Pelotas, 2017.

Alimentos	Contagem obtida (UFC/g ou ml)	Parâmetros legislação²
Carne com molho	$6,7 \times 10^3$	até 10^3
Café com leite	$1,7 \times 10^3$	até 10^3
Café com leite	$6,9 \times 10^3$	até 10^3
Bergamota	$2,9 \times 10^3$	*
Bergamota	$1,3 \times 10^2$	*
Risoto de frango	$2,5 \times 10^3$	até 10^3
Arroz com carne moída	$9,2 \times 10^4$	até 10^3
Suco em pó	$6,9 \times 10^4$	*
Suco em pó	$6,6 \times 10^3$	*
Bolacha doce	$2,9 \times 10^3$	5×10^2
Bolacha doce	$6,7 \times 10^4$	5×10^2
Bolacha salgada	$8,9 \times 10^4$	5×10^2

Legenda: ¹UFC/g ou ml: Unidade Formadora de Colônias por grama; ²RDC 12/2001. * alimentos que não apresentam padrão microbiológico para ECP

Alguns estudos relataram inadequada conservação das preparações no período pós-cozimento, devido a ausência de equipamentos para conservação a quente, condição que favorece a multiplicação de micro-organismos (ROSA et al., 2008; SANTANA et al., 2009). Durante as visitas às escolas, foi possível observar que não haviam equipamentos para conservação adequada dos alimentos quentes prontos para o consumo. Demonstrando falhas durante a conservação das refeições, o que pode sugerir uma contaminação pós-processamento térmico nas amostras de café

com leite, risoto de frango, arroz com carne e carne com molho.

Observou-se também a contaminação de sucos em pó por ECP, o que pode indicar a contaminação durante o preparo ou o uso de água em desacordo com os padrões microbiológicos. Nas amostras de bolachas e bergamota com presença de ECP possivelmente tenha ocorrido contaminação cruzada, por meio de manipulação inadequada. Estes alimentos eram servidos em um recipiente onde todos os escolares serviam-se diretamente, sem a utilização de utensílios como colheres ou pegadores. Bolachas apresentam baixa atividade de água, o que não favorece a multiplicação bacteriana, sendo considerada um alimento de baixo risco. Já as bergamotas, eram servidas descascadas e o contato direto das mãos de manipuladores e escolares ou recipientes contaminados podem ser uma fonte de contaminação de bactérias (GREIG et al., 2007).

Dentre as 74 amostras analisadas, quatro (5,4%) apresentaram quantificação de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação, sendo três preparações com leite e uma com fruta e verdura (Tabela 4) (BRASIL, 2001). Salienta-se que esses micro-organismos são um importante indicador das condições de higiene dos processos de produção, comumente associado com bactérias patogênicas, o que indica a ocorrência de contaminação fecal dessas preparações, sendo considerado um risco à saúde dos consumidores (FRANCO & LANDGRAF, 2008; SILVA et al, 2010).

Tabela 4. Alimentos coletados em escolas municipais com contagem de coliformes termotolerantes acima do permitido pela legislação. Pelotas, 2017.

Alimentos	Contagem obtida (NMP/g)¹	Parâmetros legislação²
Leite com chocolate	$>1,0 \times 10^3$	até 10
Café com leite	$4,6 \times 10^2$	até 10
Café com leite	$9,3 \times 10$	até 10
Salada de alface com bergamota	$4,6 \times 10^2$	até 10^2

Legenda: ¹NMP/mão: Número mais provável por mão; ²RDC 12/2001.

Na amostra de café com leite, em que foi isolado ECP, também foi constatada a presença de coliformes termotolerantes. Essa foi a única preparação no qual foram isolados dois tipos de bactérias potencialmente patogênicas em um mesmo alimento. Cardoso et. al. (2010), demonstraram em um estudo realizado em 83 escolas

atendidas pelo PNAE em Salvador - BA, que 20,4% e 26,5% das preparações alimentícias analisadas, apresentavam contagem em desacordo com os padrões brasileiros exigidos para coliformes termotolerantes e ECP, respectivamente. Em um estudo realizado por Oliveira et al. (2013), onde foram analisados 196 alimentos de 120 escolas na cidade de Porto Alegre -RS, apenas dois tinham a presença de ECP e cinco alimentos com presença de *Escherichia coli*.

Greig & Ravel (2009) encontraram como categoria de alimentos mais frequentemente relatadas em casos de surtos de DTA, em locais como Estados Unidos, Austrália, Nova Zelândia, Canadá e União Europeia, alimentos com múltiplos ingredientes, ovos, produtos agrícolas e carnes. Cunha et al. (2012) associaram alimentos mistos (ou preparações), ovos e produtos à base de ovos, doces e sobremesas e carnes a surtos no Brasil. No presente estudo o grupo dos produtos lácteos foi o que esteve mais envolvido com ocorrências de contaminação microbiológica nas escolas analisadas.

O leite é um alimento acessível e importante fonte de nutrientes. Mas assim como os produtos lácteos, devido à sua composição e propriedades únicas, apresentam um ótimo meio para a multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (SOUZA, 2010). Segundo Angulo et al. (2009), sua contaminação pode ocorrer devido as condições higiênicossanitárias inadequadas no ambiente de produção leiteira, que utiliza o processo de pasteurização para melhorar a segurança e prolongar a vida útil do produto. Mas também por meio da contaminação cruzada do leite após a pasteurização, onde sua manipulação e estocagem são realizadas de maneira inadequada (JELICIC et al., 2009).

Apesar da legislação brasileira determinar padrões microbiológicos apenas para ECP em alimentos, por ser comumente relacionado à produção de toxinas e considerado de risco para a saúde humana, alguns estudos relatam o potencial toxigênico de ECN, sugerindo que este micro-organismo também pode ser um risco à saúde de humanos (BRASIL, 2001; RALL et al., 2010; CHAJECKA-WIERZCHOWSKA, 2015; PODKOWIK et al., 2016).

Desse modo, foi realizada a verificação da presença dos genes codificadores de EEs clássicas (EEA, EEB, EEC, EED e EEE) em 57 isolados de *Staphylococcus* spp., dos quais 31 isolados provenientes de manipuladores (11 ECP e 20 ECN) e 26 de alimentos (12 ECP e 14 ECN). Dentre os 57 isolados, apenas três (5,26%) foram positivos para EEB (Figura 1) sendo todos provenientes da mesma escola. Apesar da

legislação brasileira determinar padrões microbiológicos apenas para ECP em alimentos, no presente estudo EE foi encontrada em isolados ECN e ECP: dois isolados de manipuladores (um ECN e um ECP) e em um isolado de arroz com carne moída (ECP). Os demais isolados (94,7%) não apresentaram o gene codificador das demais enterotoxinas testadas.

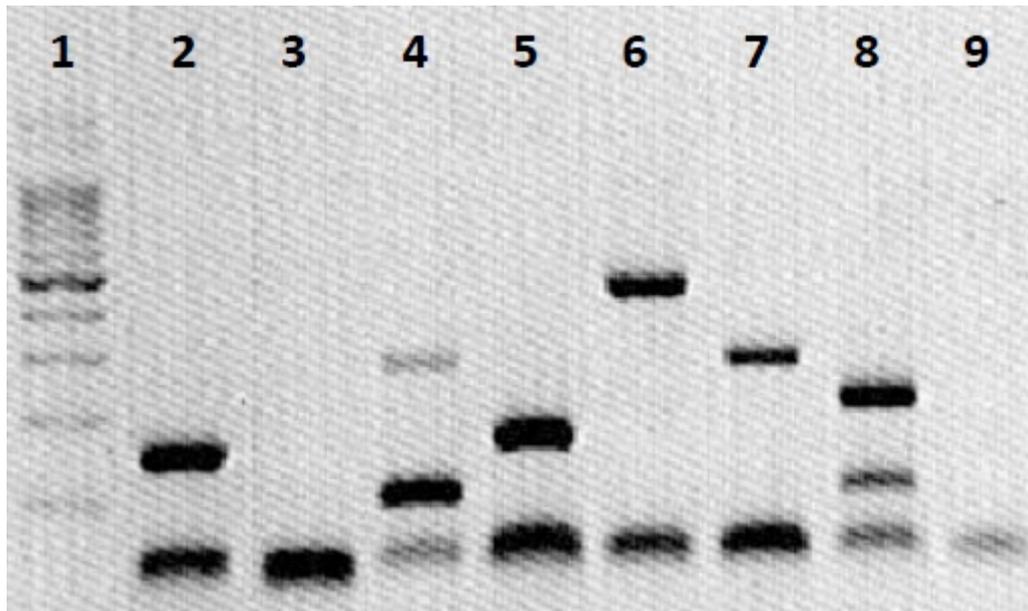


Figura 1. Produtos da PCRm visualizados em gel de agarose 2%. Pista 1: marcador de peso molecular 100 pb Ladder. Pistas 2: isolados com amplificação SEB; Pistas 3: isolados negativos para EE; Pistas 4 a 8: controles positivos SEA (102 pb), SEB (164 pb), SEC (451 pb), SED (278 pb) e SEE (209 pb) respectivamente; Pista 9: controle negativo.

Os principais sintomas causados pelas EE incluem vômitos e contrações gastrointestinais, que podem ser acompanhados de diarreia, fraqueza e tonturas (LE LOIR et al., 2003). Michelin et al. (2006), relatam a ocorrência de um surto de intoxicação estafilocócica veiculado através da merenda escolar do município de Birigüi - SP envolvendo 1800 pessoas, sendo que dessas, cerca de 1200 eram crianças em idade escolar. ECP produtor de EEA foi isolado da farofa (contendo farinha de milho, farinha de mandioca, ervilha, milho em conserva, linguiça tipo toscana e mortadela) em contagem superior a $8,5 \times 10^7$ UFC/g.

Carnes e preparações à base de carne foram um dos tipos de alimentos frequentemente envolvidos em surtos por EE (HENNEKINNE et al., 2012; van LOO et al., 2007). Zocche et al. (2009), ao analisar 50 isolados de *S. aureus* oriundos de alimentos de origem animal, encontraram seis (12%) isolados com um ou mais genes

de EE, sendo que três (6%) isolados continham SEB. Esse autor concluiu que a prevalência de *S. aureus* portadores dos genes *SEA*, *SEB*, *SEC* e *SED* é baixa em alimentos de origem animal, na região sul do Rio Grande do Sul e que a origem mais provável dos isolados de *S. aureus* nas amostras avaliadas são os manipuladores de alimentos devido ao fato de SEB estar associada com contaminação de origem humana (FUEYO et al., 2005).

Em alimentos, a presença de Estafilococos oriundo da pele humana está associada principalmente a manipulação inadequada de alimentos cozidos ou processados. Os manipuladores de alimentos podem contaminar matérias-primas, equipamentos e produtos prontos por meio do contato manual ou de secreções respiratórias (KADARIYA et al., 2014). Dablool & Al-Ghamdi (2011) ao analisarem 129 isolados de *S. aureus* oriundos das unhas, nariz e garganta de manipuladores de alimentos de diferentes nacionalidades em Makkah, encontraram produção de EEA em 16 isolados, uma produziu EEB, 20 produziram EEC e apenas uma enterotoxina EED. Hamza & Saeed (2016) avaliaram a presença de *S. aureus* enterotoxigênico em 48 isolados provenientes do nariz e mãos de manipuladores de alimentos. Dos quais 9 (18,7%) foram associados ao gene da EEA e 7 (14,5%) foram associados ao gene EEB.

Conclusão

De maneira geral as condições higienicossanitárias das UANs escolares mostraram-se inadequadas, pois apesar de não ter sido encontrado *Salmonella* spp. e *Bacillus cereus* em nenhuma amostra de alimento, mãos de manipuladores e preparações alimentícias apresentaram contagens acima do permitido para ECP e coliformes termotolerantes. Além disso, foi verificada a presença de genes produtores de EE clássicas em três isolados de *Staphylococcus* spp. e apesar da legislação não prever a análise de ECN, no presente estudo foram observadas EE em Estafilococos coagulase positiva e negativa.

Referências

Aguiar O. B., & Kraemer F. B. (2010). Educação formal, informal e não-formal na qualificação profissional dos trabalhadores de alimentação coletiva. *Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr*, 35(3), 87-96.

- Angulo, F. J., LeJeune, J. T., & Rajala-Schultz, P. J. (2009). Unpasteurized milk: a continued public health threat. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), 93 -100.
- Brasil. (10 de janeiro de 2001). Diário Oficial da União. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 12, de 02 de janeiro de 2001. *Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Disponível em http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES.
- Campos, A. K. C., Cardonha, A. M. S., Pinheiro, L. B. G., Ferreira, N. R., Azevedo, P. R. M., & Stamford, T. L. M. (2009) Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. *Food Control*, 20, 807–810.
- Cardoso, R. C. V., Almeida, R. C. C., Guimarães, A. G., Góes, J. A. W., Santana, A. A. C., Silva, S. A., Vidal Junior, P. O., Huttner, L. B., & Figueiredo, K. V. N. A. (2010). Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 69(2), 208-13.
- Castro A., Santos C., Meireles H., Silva J., & Teixeira P. (2016). Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Public Health*, 9(2), 153-60.
- CDC (Center of Disease Control). (2007). Inspection Scoring System for Food Service Establishments. Department of Health and Mental Hygiene. Bureau of Food Safety and Community Sanitation. Disponível em <http://www.nyc.gov/html/doh/downloads/pdf/inspect/inspect-food-safety-book.pdf>.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Nalepa, B., Sierpińska, M., & Łaniewska-Trokenheim, Ł. (2015). Coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin – Phenotypic and genotypic antibiotic resistance. *Food Microbiology*, 46, 222-226.
- Chiang, Y., Liao, W., Fan, C., Pai, W., Chiou, C., & Tsen, H. (2008). PCR detection of *Staphylococcal enterotoxins* (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. *Int. J. Food Microbiol.*, 121, 66–73.
- Cunha, D. T., Stedefeldt, E., & Rosso, V. V. (2012). Boas práticas e qualidade microbiológica nos serviços de alimentação escolar: uma revisão sistemática. *Revista*

Brasileira de Pesquisa em Saúde. Vitória, 14(4), 108-121.

Dablood, A. S., & Al-Ghamdi, S. S. (2011). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Handlers during Hajj Season in Saudi Arabia. *Open Journal of Safety Science and Technology*, 1, 75-78.

FDA (Food and Drug Administration). (2001). *Bacteriological Analytical Manual*. Disponível em: <http://911emg.com/Ref%20Library%20ERG/FDA%20Bacteriological%20Analysis.pdf>.

FNDE (Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação). (2016) Alunos atendidos pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE, no exercício de 2016. Disponível em: <http://www.fnde.gov.br/dadosabertos/organization/pnae>

Franco, B. D. G. M., & Landgraf, M. (2008). *Microbiologia dos alimentos*. (2th ed.). Porto Alegre: Artmed, (Chapters 3 & 4).

Fueyo, J. M., Mendoza, M. C., & Martín, M. C. (2005). Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. *Microb. Infect.*, 7, 187-194.

Greig J. D., & Ravel, A. (2009). Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 77–87.

Greig, J. D., Todd, E. C., Bartleson, C. A., & Michaels, B. S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *J Food Prot*, 70(7),1752-1761.

Hamza, A. O., & Saeed, H. A. (2016). Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* amongst Food Handlers in Khartoum State, Sudan. *European Academic Research*, 4(4), 3453-3465.

Hanson, B. M., Dressler, A. E., Harper, A. L., Scheibel, R. P., Wardyn, S. E., Roberts, L. K., et al. (2011). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. *Journal of Infection and Public Health*, 4, 169-174.

Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36, 815–836.

Jelicic, I., Boyanic, R., & Krcmar, J. (2009). Primjena HACCP sustava u proizvodnji UHT steriliziranog mlijeka. *Mljekarstvo*, 59(2), 155-175.

- Kadariya, J., Smith, T.C., & Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. *BioMed Research International*, 827965.
- Kamal, R. M., Bayoumi, M. A., & Abd El Aal, S. F. A. (2013). MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. *Food Control*, 33(1), 49-53.
- Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow MN (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Wiley: Chichester; 1991.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2, 63–76.
- Lues, J. F. R., & Van Tonder, I. (2007). The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, 18(4), 326-332.
- Mehrotra, M., Wang, G., & Johnson, W. M. (2000). Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1032-1035.
- Michelin, A. F., Carmo, L. S., & Carlos, I. Z. (2006) Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigüi, São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 65(1), 46-49.
- Oliveira, A. B. A., Capalonga, R., Silveira, J. T., Tondo, E. C., & Cardoso, M. R. I. (2013). Avaliação da presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 18(4),955-962.
- Oliveira, N. S., & Gonçalves, T. B. (2015). Avaliação Microbiológica das Mãos de Manipuladores de Alimentos em Creches da Cidade de Juazeiro do Norte, CE. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, 3(1).
- Podkowik, M., Seo, K.S., Schubert, J., Tolo, I., Robinson, D.A., Bania, J., Bystroń, J. (2016). Genotype and enterotoxigenicity of *Staphylococcus epidermidis* isolate from ready to eat meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 229, 52–59.
- Patil, S. R., Cates, S., & Morales, R. (2005). Consumer food safety knowledge, practices, and demographic differences: findings from a meta-analysis. *Journal of Food Protection*, 68(9), 1884-1894.
- Peles, F., Wagner, M., Varga, L., Hein, I., Rieck, P., Gutser, K., Keresztúri, P., Kardos, G., Turcsány, I., Béri, B., Szabó, A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 118,

p. 186-193, 2007.

Rall, V.L., Sforcin, J.M., de Deus, M.F., de Sousa, D.C., Camargo, C.H., Godinho, N.C., Galindo, L.A., Soares, T.C., & Araújo Jr., J.P. (2010). Polymerase chain reaction detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from Brazilian Minas cheese. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7, 1121–1123.

Rosa, M. S., Negreiros, S. R. F., Seabra, L. M. J., & Stamford, T. L. M. (2008). Monitoramento de tempo e temperatura de distribuição de preparações à base de carne em escola municipais de Natal (RN), Brasil. *Revista de Nutrição*, 21(1), 21-28.

Santana, N. G., Almeida, R. C. C., Ferreira, J. S., & Almeida, P. F. (2009). Microbiological quality and safety of meals served to children and adoption of good manufacturing practices in public school catering in Brazil. *Food Control*, 20, 255–261.

Shojaei, H., Shooshtaripoor, J., & Amiri, M. (2006). Efficacy of simple hand-washing in reduction of microbial hand contamination of Iranian food handlers. *Food Research International*, 39(5), 525-529.

Silva, N. D., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Santos, R. F. S., Gomes, R. A. R. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. (4th ed.). São Paulo: Livraria Varela, (Chapters 9 & 10).

Silva, S. S., Cidral, T. A., Soares, M. J., & Melo, M.C. (2015). Enterotoxin-Encoding Genes in *Staphylococcus* spp. from Food Handlers in a University Restaurant. *Foodborne Pathog Dis.*, 12(11), 921-5.

Souza, D. P. (2010). Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite utilizado no restaurante escola da Universidade Federal de Pelotas. *Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 30 (1), 27-30.

Tan, S. L., Bakar, F. A., Karim, M. S. A., Lee, H. Y., & Mahyudin, N. A. (2013). Hand hygiene knowledge, attitudes and practices among food handlers at primary schools in Hulu Langat district, Selangor (Malaysia). *Food Control*, 34, 428-435.

Van Loo, I. H., Diederren, B. M., Savelkoul, P. H., Woudenberg, J. H., Roosendaal, R., van Belkum, A., et al. (2007). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, The Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*, 13, 1753-1755.

Zocche, F., França, R. C., Aleixo, J. A. G., Moreira, A. N., & Silva, W. P. (2009). PCR Multiplex para detecção de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos isolados de alimentos de origem animal no sul do rio grande do sul, Brasil. *Interciencia*, 34(7), 487-491.

6 Considerações finais

Os resultados obtidos demonstraram alto percentual de não conformidades, sendo que duas das 15 escolas apresentaram "situação de risco sanitário alto" e todas as outras foram classificadas como "situação de risco sanitário regular". Acredita-se que, isso ocorreu em parte, devido ao fato de a maioria das escolas apresentarem um espaço físico que não foi construído para atender as necessidades de um serviço de alimentação.

Foram encontradas contagens acima do padrão recomendado para bactérias aeróbias mesófilas em superfícies de manipulação de alimentos. Já as contagens de coliformes termotolerantes estavam dentro do padrão recomendado para todas as amostras.

A qualidade do ar ambiental na área de preparação de alimentos foi satisfatória em todas as escolas avaliadas, para contagens de bolores e leveduras e bactérias mesófilas aeróbias. Não esperava-se encontrar este resultado, já que nenhuma das escolas fazia uso de barreiras físicas, como telas nas janelas ou portas de proteção, o que poderia facilitar a contaminação por micro-organismos e refletir em números maiores nas contagens.

Embora a higienização semestral das caixas da água tenha sido relatada na maioria das escolas, coliformes totais foram encontrados em amostras de água, assim como *E. coli.*, o que demonstra a necessidade de melhoria na manutenção dos locais de armazenamento para que a água atinja os padrões sanitários exigidos pela legislação brasileira.

As amostras das mãos de manipuladores de alimentos apresentaram contagens acima do recomendado para ECP e para coliformes termotolerantes. Além disso observou-se que nenhuma escola possuía lavatórios adequados e exclusivos para a higienização corretas das mãos.

Todas as amostras de preparações alimentícias analisadas apresentaram ausência de *Salmonella* spp. e contagem de *Bacillus cereus* dentro do permitido pela legislação. Porém, foram encontradas contagens acima do permitido para ECP e coliformes termotolerantes. Possivelmente seja um reflexo das várias inconformidades observadas ao longo da cadeia de produção e que refletiram no produto final.

Apesar da legislação brasileira determinar padrões microbiológicos apenas para ECP em alimentos, por ser comumente relacionado à produção de toxinas, no presente estudo EEB foi encontrada em isolados provenientes de ECN e ECP, em uma amostra de arroz com carne moída e duas amostras de manipuladores.

De modo geral, pode-se concluir que as escolas municipais da cidade de Pelotas que fizeram parte da pesquisa não apresentaram padrões higienicossanitários adequados, pois foram encontradas inadequações tanto na avaliação pela lista de verificação como nos resultados das análises microbiológicas.

7 Referências Gerais

ABDUL-MUTALIB, N. A.; ABDUL-RASHID, M. F.; MUSTAFA, S.; AMIN-NORDIN, S.; HAMAT, R. A.; OSMAN, M. Knowledge, attitude and practices regarding food hygiene and sanitation of food handlers in Kuala Pilah, Malaysia. **Food Control**, v. 27, n. 2, p. 289–293, 2012.

AGUIAR, O. B.; KRAEMER, F. B. Educação formal, informal e não-formal na qualificação profissional dos trabalhadores de alimentação coletiva. **Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr**, v. 35, n. 3, p. 87-96, 2010.

American Public Health Association (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. New York: APHA; 1998.

ANGULO, F. J., LeJeune, J. T., & Rajala-Schultz, P. J. Unpasteurized milk: a continued public health threat. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, p. 1, 93-100, 2009.

ANTUNES, Fabiane. **Relação entre a ocorrência de diarreia e surtos alimentares em Curitiba-PR**. 2005. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná: 2005. Disponível em: < http://www.imap.curitiba.pr.gov.br/wp-content/uploads/2014/03/Relacao_entre_a_ocorrenca_de_diarreia_e_surtos_alimentares_em_curitiba.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015.

BHATIA, A; ZAHOR, S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 3, p. 188—97, 2007.

BRASIL. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução CD nº 32, de 10 de agosto de 2006. **Estabelece as normas para a execução do Programa Nacional de Alimentação Escolar**. Diário Oficial da União. 2006.

BRASIL. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação. Resolução nº 38, de 23 de agosto de 2004. **Estabelecer critérios para execução do PNAE**. Diário Oficial da União. 2004. Disponível em: <<http://www.fnnde.gov.br/component/k2/item/4228resolu%C3%A7%C3%A3o-cd-fnde-n%C2%BA-38,-de-23-de-agosto-de-2004>>. Acesso em: 10 out. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC N° 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário oficial da União. Brasília, 2001.

BRASIL. Lei 11.346 – **Lei de segurança alimentar e nutricional**. CONSEA. De 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. D. O. U. Diário Oficial da União de 18 set. 2006. Brasília, DR.

BRASIL. Resolução RDC Nº 216 de 16 de setembro de 2004 do Ministério da Saúde. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 16 de setembro 2004. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=12546>>. Acesso em: 10 out. 2015.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. 2015. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/publicacoes-svs>>. Acesso em: 05 dez. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2010. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. 2016. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>> Acesso em: 15 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

BROWN, K. Control of bacterial spores. **British Medical Bulletin**, v. 56, p. 158–71, 2000.

CARDOSO, R. C. V.; ALMEIDA, R. C. C.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, J. A. W.; SANTANA, A. A. C.; SILVA, S. A.; VIDAL JUNIOR, P. O.; HUTTNER, L. B.; FIGUEIREDO, K. V. N. A. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de

Alimentação Escolar. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, p. 208-13, 2010.

CARMO, G. M. I., et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, Brasília, ano 5, n.6, 2005. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/busca/buscar.cfm>>. Acesso em: 1 dez. 2015.

CAMPOS, A. K. C.; CARDONHA, A. M. S.; PINHEIRO, L. B. G.; FERREIRA, N. R.; AZEVEDO, P. R. M.; STAMFORD, T. L. M. Assessment of personal hygiene and practices of food handlers in municipal public schools of Natal, Brazil. **Food Control**, v. 20, p. 807–810, 2009.

CARDOSO, R. C. V.; ALMEIDA, R. C. C.; GUIMARÃES, A. G.; GÓES, J. A. W.; SANTANA, A. A. C.; SILVA, S. A.; VIDAL Junior, P. O.; HUTTNER, L. B.; FIGUEIREDO, K. V. N. A. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos para consumo servidos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 69(2), p. 208-13, 2010.

CASTRO, A.; SANTOS, C.; MEIRELES, H.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. **J Infect Public Health**, v. 9, n. 2, p. 153-60, 2016.

CECANE UFRGS/ UNIFESP. **Guia de Instruções das Ferramentas para as Boas Práticas na Alimentação Escolar**. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/cecane/downloads/>> Acesso em: 23 dez. 2015.

Center of Disease Control and Prevention - CDC. **Inspection Scoring System for Food Service Establishments**. Department of Health and Mental Hygiene. Bureau of Food Safety and Community Sanitation, 2007. Disponível em: <<http://www.nyc.gov/html/doh/downloads/pdf/inspect/inspect-food-safety-book.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2017.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. **Summary of notifiable diseases** - United States, 2007. **MMWR**, v. 56, n. 53, p. 1-94, July 9, 2009. Disponível em <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5653a1.htm>>. Acesso em: 29 dez. 2015.

Centers for Disease Control and Prevention – CDC. **Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks** - United States, 1998-2002. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)** November, 2006. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/ss/ss5510.pdf> > Acesso em: 01 Dez. 2015.

CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, W.; ZADERNOWSKA, A.; NALEPA, B.; SIERPIŃSKA, M.; ŁANIEWSKA-TROKENHEIM, Ł. Coagulase-negative

staphylococci (CoNS) isolated from ready-to-eat food of animal origin – Phenotypic and genotypic antibiotic resistance. **Food Microbiology**, v. 46, p. 222-226, 2015.

CHIANG, Y.; LIAO, W.; FAN, C.; PAI, W.; CHIOU, C.; TSEN, H. PCR detection of Staphylococcal enterotoxins (SEs) N, O, P, Q, R, U, and survey of SE types in *Staphylococcus aureus* isolates from food-poisoning cases in Taiwan. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 121, p. 66–73, 2008.

COELHO, A. I. M.; MILAGRES, R. C. R. M.; MARTINS, J. F. L.; AZEREDO, R. M. C.; SANTANA, A. M. C. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciê n Saúde Colet**, v. 15(20), p. 1597-1606, 2010.

CUNHA, D. T.; STEDEFELDT, E.; ROSSO, V. V. Boas práticas e qualidade microbiológica nos serviços de alimentação escolar: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**. Vitória, v. 14, n. 4, p. 108-121, 2012.

DABLOOL, A. S.; AL-GHAMDI, S. S. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Handlers during Hajj Season in Saudi Arabia. **Open Journal of Safety Science and Technology**, v. 1, p. 75-78, 2011.

DANIELS, N. A.; MACKINNON, L.; ROWE, S. M.; BEAN, N.H.; GRIFFIN, P. M.; MEAD, P.S. Foodborne disease outbreaks in United States schools. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 21, p. 623-8, 2002.

EFSA (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. **EFSA Journal**, v. 13, n. 1, p. 3991, 2015. Disponível em: <<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/EU-summary-report-trends-sources-zoonoses-2013.pdf>>. Acesso em: 10 dez. 2015.

FEITOSA NETO, A.; SILVA, J. L.; MOURA, G. J. B.; CALAZANS, G. M. T. Avaliação da qualidade da água potável de escolas públicas do Recife, PE. **Rev. Hig. Alimentar**, v. 139, n. 20, p. 80-2, 2006.

FERREIRA, J. S.; COSTA, W. L. R.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; OLIVEIRA, L.C.; ALMEIDA, R.C.C. Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. **Food Control**, v. 37, p. 395 – 400, 2014.

FIGUEIREDO, Karla Vila Nova de Araújo. **A segurança de alimentos em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar: o que revela a**

produção científica publicada entre 1990 e 2009. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde) – Universidade Federal da Bahia, Salvador - Bahia, 2011. Disponível em: <https://twiki.ufba.br/twiki/pub/PGNUT/DissertacoesDefendidas2011/Disserta%E7%E3o_Karla_Vila_Nova.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2015.

FIGUEIREDO, Roberto. Martins. SSOP: **Programa de Redução de Patógenos - Padrões e Procedimentos Operacionais de Sanitização.** São Paulo: Manole, 2001.

Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação - FNDE. **Alunos atendidos pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar – PNAE, no exercício de 2016.** Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/dadosabertos/organization/pnae>>. Acesso em 10 jul. 2017.

Food and Drug Administration – FDA. **Bacteriological Analytical Manual.** Gaithersburg, AOAC International, 2001. Disponível em: <<http://911emg.com/Ref%20Library%20ERG/FDA%20Bacteriological%20Analysis.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2015.

FRANCO, Bernardete D. Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos alimentos.** Atheneu: São Paulo, 182p., 2008.

FUEYO, J. M.; MENDOZA, M. C.; MARTÍN, M. C. Enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in *Staphylococcus aureus* recovered from human nasal carriers and manually handled foods: epidemiological and genetic findings. **Microb. Infect.**, v. 7, p. 187-194, 2005.

Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE) Conselho Nacional dos Procuradores Gerais do Ministério Público dos Estados, do Distrito Federal e da União Grupo Nacional de Direitos Humanos. **Cartilha Nacional da Alimentação Escolar.** Brasília, DF 2015 2ª edição. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/programas/alimentacao-escolar/alimentacao-escolar-material-de-divulgacao/alimentacao-manuais/item/6820-cartilha-pnae-2015>>. Acesso em: 22 Nov. 2015.

GEENHALGH, T.; KRISTJANSSON, E.; ROBINSON, V. Realist review to understand the efficacy of school feeding programs. **BMJ**, v. 335, p. 858-61, 2007.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, p. 501 – 516, 2009.

GUSTAFSON, J. E.; MUTHAIYAN, A.; DUPRE, J. M.; RICKE, S. C. *Staphylococcus aureus* and understanding the factors that impact enterotoxin production in foods: A review. **Food Control**, p. 1 – 14, 2015.

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

GREIG, J. D.; TODD, E. C.; BARTLESON, C. A.; MICHAELS, B. S. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. **J Food Prot**, v. 70, n. 7, p. 1752-1761, 2007.

HAVELAAR, A.H.; BRUL, S.; JONG, A.; JONGE, R.; ZWIETERING, M.H.; KUILE, B.H. Future challenges to microbial food safety. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 79-94, 2009.

Health Protection Surveillance Centre (HPSC). Infectious Intestinal Disease: Public Health & Clinical Guidance. **Bacillus cereus food-borne illness**. Julho, 2012. Disponível em: < <http://www.hpsc.ie/>>. Acesso em: 21 mar. 2016.

HAMZA, A. O.; SAEED, H. A. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* amongst Food Handlers in Khartoum State, Sudan. **European Academic Research**, v. 4, n. 4, p. 3453-3465, 2016.

HANSON, B. M.; DRESSLER, A. E.; HARPER, A. L.; SCHEIBEL, R. P.; WARDYN, S. E.; ROBERTS, L. K., et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on retail meat in Iowa. **Journal of Infection and Public Health**, v. 4, p. 169-174, 2011.

HENNEKINNE, J. A.; DE BUYSER, M. L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, p. 815–836, 2012.

HENNEKINNE, J. A.; OSTYN, A.; GUILLIER, F.; HERBIN, S.; PRUFER, A.L.; DRAGACCI, S. How Should Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks Be Characterized? **Toxins**, v.2, n. 8, p. 2106-2116, 2010.

JELICIC, I.; BOYANIC, R.; KRČMAR, J. Primjena HACCP sustava u proizvodnji UHT steriliziranog mlijeka. **Mljekarstvo**, v. 59, n. 2, p. 155-175, 2009.

KADARIYA, J.; SMITH, T.C.; THAPALIYA, D. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. **BioMed Research International**, 2014.

KAMAL, R. M.; BAYOUMI, M. A.; ABD EL Aal, S. F. A. MRSA detection in raw milk, some dairy products and hands of dairy workers in Egypt, a mini-survey. **Food Control**, v. 33, n. 1, p. 49 - 53, 2013.

KLUYTMANS, J. A.; WERTHEIM, H. F. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. **Infection**, v. 33, p. 3 - 8, 2005.

KOCHANSKY S.; PIEROZAN, M. K.; MOSSI, A. J.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R. L.; GHISLENI, C. P.; et al. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 4, p. 663-668, 2009.

LE LOIR, Y.; BARON, F. ; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genet. Mol. Res.** v. 2, p. 63–76, 2003.

LANE, D. J. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E, Goodfellow MN (eds) *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. Wiley: Chichester; 1991.

LUES, J. F. R.; VAN TONDER, I. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. **Food Control**, 18(4), 326-332, (2007).

MEHROTRA, M.; WANG, G.; JOHNSON, W. M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38(3), p. 1032-1035, 2000.

MEZZARI, M. F.; RIBEIRO, A. B. Avaliação das condições higiênicas-sanitárias da cozinha de uma escola municipal de Campo Mourão - Paraná. **Rev. Saúde e Biol**, v. 7(3), p. 60-66, 2012.

MICHELIN, A. F.; CARMO, L. S.; & CARLOS, I. Z. Surto de intoxicação alimentar estafilocócica no município de Birigüi, São Paulo. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 46-49, 2006.

NORMANNO, G.; FIRINU, A.; VIRGILIO, S.; MULA, G.; DAMBROSIO, A.; POGGIU, A., et al. Coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 98, p. 73 – 79, 2005.

OCHSENHOFER, K.; QUINTELLA, L. C.; NASCIMENTO, A. P. B.; RUGA, G. M.; PHILIPPI, S. T.; SZARFAC, S. O papel da escola na formação da escola alimentar: merenda escolar ou cantina? **Nutrire: Ver Soc Bras Alim Nutr**, v. 31, n. 1, p. 1-16, 2006.

OLIVEIRA, A. B. A.; PAULA, C. M. D.; CAPALONGA, R., CARDOSO, M. R. I.; TONDO, E. C. Doenças Transmitidas por Alimentos, Principais Agentes Etiológicos e Aspectos Gerais: Uma Revisão. **Revista HCPA**, v. 30, n.3, p. 279-285, 2010.

OLIVEIRA, A. B. A.; CAPALONGA, R.; SILVEIRA, J. T.; TONDO, E. C.; CARDOSO, M. R. I. Avaliação da presença de microrganismos indicadores higiênico-sanitários em alimentos servidos em escolas públicas de Porto Alegre, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 4, p. 955-962, 2013.

OLIVEIRA, N. S.; GONÇALVES, T. B. Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em creches da cidade de Juazeiro do Norte – CE. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 3, n.1, 2015.

PATIL, S. R.; CATES, S.; MORALES, R. Consumer food safety knowledge, practices, and demographic differences: findings from a meta-analysis. **Journal of Food Protection**, v. 68(9), p. 1884-1894, 2005.

PELES, F.; WAGNER, M.; VARGA, L.; HEIN, I.; RIECK, P.; GUTSER, K.; KERESZTÚRI, P.; KARDOS, G.; TURCSÁNY, I.; BÉRI, B.; SZABÓ, A. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine milk in Hungary. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 118, p. 186-193, 2007.

Pew Health Group - PWG. American Academy of Pediatrics. **Children and Foodborne Illness**. Novembro, 2009. Disponível em: <<http://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/issue-briefs/2009/11/12/children-and-foodborne-illness>>. Acesso em: 30 dez. 2015.

PISTORE, A.R., GELINSKIB, J. M. L. N. Avaliação dos conhecimentos higiênico-sanitários dos manipuladores de merenda escolar: fundamento para treinamento contínuo e adequado. **Hig Aliment**; v. 20, n. 146, p. 17-20, 2006.

PODKOWIK, M.; SEO, K.S.; SCHUBERT, J.; TOLO, I.; ROBINSON, D.A.; BANIA, J.; BYSTROŃ, J. Genotype and enterotoxigenicity of *Staphylococcus epidermidis* isolate from ready to eat meat products. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 229, p. 52–59, 2016.

RALL, V. L. M.; CARDOSO, K. F. G.; XAVIER, C. Enumeração de coliformes em pescado Fresco e congelado. **PUBVET**, v. 2, n. 39, p. 1-17. 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/material/Cardoso375.pdf>> Acesso em: 20 mar. 2016.

RALL, V.L.; SFORCIN, J.M.; DE DEUS, M.F.; DE SOUSA, D.C.; CAMARGO, C.H.; GODINHO, N.C.; GALINDO, L.A.; SOARES, T.C.; ARAÚJO JR. J.P. Polymerase chain reaction detection of enterotoxins genes in coagulase-negative staphylococci isolated from Brazilian Minas cheese. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, p. 1121–1123, 2010.

RALL, V. L.M.; SFORCIN, J.M.; AUGUSTINI, V. C. M.; WATANABE, M.T.; FERNANDES Jr, A.; RALL, R, et al. Detection of enterotoxin genes of *Staphylococcus* sp. isolated from nasal cavities and hands of food handlers. **Braz J Microbiol**, v. 41, p. 59—65, 2010.

REYES, J.E.; BASTIAS, J.M.; GUITIERREZ, M.R.; RODRIGUEZ, M.O. Prevalence of *Bacillus cereus* in dried milk products used by Chilean school feeding program. **Food Microbiol**, v. 24, p. 1 – 6, 2007.

ROCHA, E.S.; ROSICO, F.S.; SILVA, F.L.; LUZ, T.C.S.; FORTUNA, J.L. Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). **Rev Baiana de Saúde Pública**, v. 34, n. 3, p. 694-705, 2010.

RODRIGUEZ, M.; VALERO, A.; CARRASCO, E.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; POSADA, G. D.; ZURERA, G. Hygienic conditions and microbiological status of chilled Ready-To-Eat products served in Southern Spanish hospitals. **Food Control**, v. 22, n. 6, p. 874-882, 2011.

ROSA, M. S.; NEGREIROS, S. R. F.; SEABRA, L. M. J.; & STAMFORD, T. L. M. Monitoramento de tempo e temperatura de distribuição de preparações à base de carne em escola municipais de Natal (RN), Brasil. **Revista de Nutrição**, v. 21, n. 1, p. 21-28, 2008.

SACCOL, A.L.F.; GIACOMELLI, S.C., MESQUITA, M.O.; CASTRO, A.K.F., SILVA Jr, E.A.; HECKTHEUER, L.H.R. Sanitary legislation governing Food Services in Brazil. **Food Control**, v. 52, p. 27 – 33, 2015.

SANTANA, N. G.; ALMEIDA, R.C.C.; FERREIRA, S. J.; ALMEIDA, F. P. Microbiological quality and safety of meals served to children and adopted good manufacturing practices in public school catering in Brazil. **Food Control**, v. 20, p. 255–261, 2009.

SCHNEIDER, K. R.; PARISH, M. E.; GOODRICH, R. M.; COOKINGHAM, T. Preventing Foodborne Illness: *Bacillus cereus* and *Bacillus anthracis*. **University of Florida**. Novembro, 2004. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/>>. Acesso em: 21 mar. 2016.

SCOTT, E. Food safety and foodborne diseases in 21st century homes. **Can. J. Infect. Dis.**, v.14, p. 277-280, 2003.

Serviço Nacional de Aprendizagem Comercial - SENAC. **Guia Passo a Passo: Implantação de Boas Práticas e Sistema APPCC**. Projeto APPCC Mesa. Rio de Janeiro: Senac Press; 2002. Disponível em: <<http://www.pas.senai.br/mesa/materiais.asp>>. Acesso em: 25 nov. 2015.

SHOJAEI, H.; SHOOSHTARIPOOR, J.; AMIRI, M. Efficacy of simple hand-washing in reduction of microbial hand contamination of Iranian food handlers. **Food Research International**, v. 39, n. 5, p. 525-529, 2006.

SANI, N. A.; & SLOW, O.N. Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. **Food Control**, v. 37, p. 210-217.

SILVA Jr, Eneo Alves da. Segurança Alimentar. In: **Manual de Controle Higiênico - Sanitário Em Serviços de Alimentação** - 7^a Ed. São Paulo: Varela; 2014.

SILVA, E. P.; BERGAMINI, A. M. M.; OLIVEIRA, M. A. Alimentos e agentes etiológicos envolvidos em toxinfecções na região de Ribeirão Preto, SP, Brasil – 2005 a 2008 – **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 7, n. 77, p. 4-10, 2010.

SILVA, M. C.; GALLO, C. R. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema Simplate. **Higiene**

Alimentar, v.17, p. 75-85, 2003.

SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. (4th ed.). São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SILVA, Neusely. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SILVA, S. S.; CIDRAL, T. A.; SOARES, M. J.; MELO, M.C. Enterotoxin-Encoding Genes in *Staphylococcus* spp. from Food Handlers in a University Restaurant. **Foodborne Pathog Dis.**, v. 12, n. 11, p. 921-5, 2015.

SILVA, V. B.; CARDOSO, R. C. V. Controle da qualidade higiênico-sanitária na recepção e no armazenamento de alimentos: um estudo em escolas públicas municipais de Salvador, Bahia. **Seg Alim e Nut**, v. 18, n. 1, p. 43-57, 2011.

SOARES, L. S.; ALMEIRA, R. C. C.; CERQUEIRA, E. S.; CARVALHO, J. S.; NUNES, I. L. Nunes. Knowledge, attitudes and practices in food safety and the presence of coagulase positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. **Food Control**, v. 27, p. 206 – 213, 2012.

SOSPEDRA, I.; Manes, J.; SORIANO, J.M. Report of toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) from *Staphylococcus aureus* isolated in food handlers and surfaces from food service establishments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 288 – 290, 2012.

SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimento. **Rev Atenção Primária à Saúde**, v. 9(1), p. 83-8, 2006.

SOUZA, D. P. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite utilizado no restaurante escola da Universidade Federal de Pelotas. **Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, v.30, n.01, p.27-30, 2010.

SOUZA, P. A.; SANTOS, D. A. Microbiological risk factors associated with food handlers in elementary schools from Brazil. **Journal of Food Safety**, v. 29, p. 424 – 429, 2009.

STEWART, G. C. *Staphylococcus aureus*. In: Fratamico P, Bhunia A, Smith J, eds. Foodborne pathogens: microbiology and molecular biology. Norfolk, United Kingdom: **Caister Academic Press**; p. 273–84, 2005.

SVEUM, W.; MORBERG, L.; RUDE, R. A.; FRANK, J. F. **Microbiological monitoring of the food-processing environment**. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, DC: American Public Health Association (APHA); 1992. 3 Ed., p. 51–74.

TAN, S. L.; BAKAR, F. A.; KARIM, M. S. A.; LEE, H. Y.; MAHYUDIN, N. A. Hand hygiene knowledge, attitudes and practices among food handlers at primary schools in Hulu Langat district, Selangor (Malaysia). **Food Control**, v. 34, p. 428-435, 2013.

TOMICH, R. G. P.; TOMICH, T. R.; AMARAL, C. A. A.; JUNQUEIRA, R. G.; PEREIRA, A. J. G. Metodologia para Avaliação das boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo. **Ciênc Tecnol Alim**, v. 25, n. 1, p. 115-20, 2005.

TRINDADE, S. N. C.; PINHEIRO, J. S.; ALMEIDA, H. G.; PEREIRA, K. C.; SOBRINHO, P. S. C. Bacteriological quality and food safety in a Brazilian school food program. **Nutr Hosp**, v. 29, n. 1, p. 80-87, 2014.

UDO, E. E.; AL-MUFTI S.; ALBERT, M. J. The prevalence of antimicrobial resistance and carriage of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from food handlers in Kuwait city restaurants. **BMC Res Notes**, v. 2, p. 108, 2009.

VAN LOO, I. H.; DIEDEREN, B. M.; SAVELKOUL, P. H.; WOUDEBERG, J. H.; ROOSEDAAL, R.; VAN BELKUM, A., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, The Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, p. 1753-1755, 2007.

VASCONCELOS, N.G.; da CUNHA, M.R. Staphylococcal enterotoxins: Molecular aspects and detection methods. **J. Public Health Epidemiol**, v. 2, p. 29-42, 2010.

WATTINGER, L.; STEPHAN, R.; LAYER, F.; JOHLER, S. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates associated with food intoxication with isolates from human nasal carriers and human infections. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 31, p. 455 – 64, 2012.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvido sem surtos de

doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. de Biociências**, v. 8, p. 44 – 8, 2010.

World Health Organization (WHO). Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases. **FIVE KEYS TO SAFER FOOD MANUAL**. 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/5keysmanual/en/>>. Acesso em: 28 jan. 2016.

World Health Organization (WHO). **Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control**. 2008. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/outbreak_guidelines.pdf> Acesso em: 10 de fev. 2016.

World Health Organization (WHO). **Advancing food safety initiatives: strategic plan for food safety including foodborne zoonoses 2013–2022**. 2013. Disponível em: <www.who.int>. Acesso em: 05 fev. 2016.

World Health Organization (WHO). **WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007 – 2015**. Geneva: WHO; 2015. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2016.

ZOCHE, F.; FRANÇA, R. C.; ALEIXO, J. A. G.; MOREIRA, A. N.; & SILVA, W. P. PCR Multiplex para detecção de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos isolados de alimentos de origem animal no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Interciencia**, v. 34, n. 7, p. 487-491, 2009.

Apêndices

Apêndice A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - FACULDADE DE NUTRIÇÃO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada: BOAS PRÁTICAS EM SERVIÇOS DE ALIMENTAÇÃO E CONDIÇÕES HIGIÊNICOSSANITÁRIAS DAS MÃOS DOS MANIPULADORES, que tem o objetivo de avaliar a adoção de boas práticas em serviços de alimentação de escolas públicas e as condições higienicossanitárias das mãos dos manipuladores.

PROCEDIMENTOS: Fui informado (a) de que serão coletadas amostras das minhas mãos após essas serem higienizadas, por meio de cotonete contendo solução salina.

RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES: Fui informado (a) de que não existem riscos físicos no estudo pois a coleta é realizada com substância adequada (solução salina), e caso eu sinta qualquer desconforto poderei desistir da participação na pesquisa em qualquer momento.

BENEFÍCIOS: O benefício de participar da pesquisa relaciona-se ao fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem, além dos resultados servirem de base para melhorias nas condições higienicossanitárias dos serviços de alimentação das escolas.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: A minha adesão à pesquisa ocorrerá de forma voluntária e nenhum tipo de penalidade será aplicada caso não seja do meu interesse participar.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante o estudo e que os dados coletados só serão utilizados para fins de pesquisa e divulgados em material acadêmico.

CONSENTIMENTO: Ciente das informações citadas anteriormente, eu concordo em participar do estudo. Duas vias serão assinadas, ficando uma com o pesquisador e outra comigo.

ASSINATURA:

DATA: ___ / ___ / 20___

ASSINATURA DO PESQUISADOR: _____

Prof^ª. Dr^ª. Kelly Lameiro Rodrigues - Universidade Federal de Pelotas/ Faculdade de Nutrição - Telefone para informações: (53) 3921-1397
Comitê de Ética em Pesquisa FAMED: (53)3221-3554 (53)3284-4960

APÊNDICE B

Pelotas, 22 de abril de 2015.

SOLICITAÇÃO DE APOIO

Prezada Senhora Lucia Cristina Muller dos Santos

Secretária de Educação e Desporto

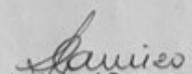
Prefeitura Municipal de Pelotas

O projeto Fortalecimento do Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (SISAN) no município de Pelotas-RS, coordenado pela professora Natacha Deboni Cereser está concorrendo ao Edital PROEXT 2016, com o objetivo de aquisição de recursos para sua realização.

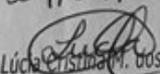
O projeto será desenvolvido junto a unidades participativas de leite da região sul do Rio Grande do Sul e escolas municipais do município de Pelotas-RS, onde será avaliada a qualidade higienicossanitária dos alimentos, por meio de análises microbiológicas.

Nesse sentido, a equipe executora do projeto vem solicitar novamente o apoio desta Secretaria, no sentido de consentir a inserção das ações nas escolas municipais, conforme convênio já firmado entre as duas instituições – Universidade Federal de Pelotas e Prefeitura Municipal de Pelotas.

Certa de sua compreensão e apoio, antecipadamente agradeço.


Natacha Deboni Cereser – coordenadora do projeto

Autorizo acesso às
escolas municipais
24/04/2015


Lucia Cristina Muller dos Santos
Secretária de Educação e Desporto
SMED - PELOTAS/RS

Anexo

Anexo A - Lista de Verificação em Boas Práticas para Unidade de Alimentação e Nutrição Escolares

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

Considera-se:

NA para condições/situações em que não se aplica a observação;

8 para condições/situações que permitem a multiplicação de microrganismos;

4 para condições/situações que permitem a sobrevivência de microrganismos;

2 para condições/situações de contaminação cruzada com contato direto com o alimento;

1 para condições/situações de contaminação cruzada sem contato direto com o alimento;

0 para condições/situações de não conformidade.

EDIFÍCIOS E INSTALAÇÕES DA ÁREA DE PREPARO DE ALIMENTOS			
	Sim	Não	NA
Localização da Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN)			
- os arredores oferecem condições gerais de higiene e sanidade, evitando riscos de contaminação? E essa área é ausente de lixo, objetos em desuso, animais, insetos e roedores?	2	0	2
Piso da área de produção			
- apresenta-se em bom estado de conservação ¹ e permite o não acúmulo de sujidades e água? ¹ Íntegro, sem presença de: sujidades, rachaduras, bolor e descolamento.	1	0	1
- os ralos são de fácil limpeza, dotados de mecanismos de fechamento, possuindo grelhas com proteção telada ou outro dispositivo que impeça a entrada de roedores e de baratas? (Nota: As canaletas devem obedecer os mesmos critérios)	1	0	1
- é impermeável, lavável e de fácil higienização (lavagem e desinfecção)?	1	0	1
Paredes e divisórias da área de produção			
- as paredes e divisórias são de cores claras, constituídas de material e acabamento lisos, impermeáveis, laváveis e em bom estado de conservação ² ? ² Sem presença de: bolor, umidade, descascamento, descolamento e rachaduras.	1	0	1
Forros e tetos da área de produção			
- apresentam acabamento liso, impermeável, lavável, de cor clara e em bom estado de conservação ³ ? ³ sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1
Portas e janelas da área de produção			
- as portas são de cores claras, constituídas de superfícies lisas, não absorventes de fácil limpeza, e dotadas de fechamento automático, molas ou sistema similar?	1	0	1
- possuem proteção nas aberturas inferiores para impedir a entrada de insetos e roedores?	2	0	2
- as janelas apresentam superfícies lisas, laváveis e em bom estado de conservação ⁴ ? ⁴ sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1
- as portas apresentam-se em bom estado de conservação ⁵ e perfeitamente ajustadas aos batentes? ⁵ sem presença de: sujidades, umidade, bolor, descascamento e descolamento.	1	0	1

- quando usadas para ventilação, são dotadas de telas milimétricas ⁷ facilmente removíveis para limpeza e mantidas em bom estado de conservação ⁸ ?	2	0	2
⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios. ⁸ Sem a presença de: furos, acúmulo de sujidades e gordura, descolamento da borda			
Iluminação da área de produção			
- quando posicionadas sobre áreas de manipulação de alimentos, as lâmpadas são dotadas de sistema de segurança contra quedas acidentais?	2	0	2
- a iluminação é uniforme sem cantos escuros?	1	0	1
Ventilação da área de produção			
- é garantida a inexistência de ventiladores e/ou aparelhos de ar condicionado nas áreas de manipulação?	2	0	2
Abastecimento de água			
A água é ligada à rede pública ou à rede alternativa com sua potabilidade atestada por laudos?	8	0	8
Há presença de reservatório de água?	8	0	8
O reservatório de água é edificado e/ou revestido de material que não comprometa a qualidade da água, conforme legislação específica, e é livre de rachaduras, vazamentos, infiltrações, descascamentos, em adequado estado de higiene e conservação e devidamente tampado?	8	0	8
O reservatório de água é higienizado semestralmente, por empresa especializada e pessoal capacitado e existe de registro que comprovam a higienização?	8	0	8
Sanitários e vestiários			
É de uso exclusivo de funcionários e apresentam-se em bom estado de conservação ⁹ ?	1	0	1
⁹ Sem a presença de: vazamentos, sujidades, acúmulo de água no chão, rachaduras em paredes e vasos, bolor e umidade em portas, paredes e forro.			
- são conectados à rede de esgoto ou a fossa asséptica esvaziada periodicamente?	2	0	2
- os banheiros são constituídos de vasos sanitários com tampa e descarga eficiente?	2	0	2
- são providos de água corrente?	4	0	4
são dotados de pia para lavagem de mãos, sabão e papel descartável para secagem e com lixeira para descarte de papel, em bom estado de conservação ¹⁰ ?	4	0	4
¹⁰ Sem a presença de: rachaduras e sujidades.			
Lavatórios exclusivos para higiene das mãos			
- possuem sabão adequado: líquido e inodoro, anti-séptico, papel toalha não reciclado ou outro sistema adequado para secagem de mãos, lixeiras com tampa, ambas com acionamento NÃO manual, e torneira com desligamento automático ou acionamento NÃO manual?	4	0	4
- são dotados de água corrente?	4	0	4
- nas pias destinadas para manipulação e/ou preparo de alimentos, é garantida a ausência de sabão e/ou anti-séptico para higiene das mãos?	4	0	4
Áreas de armazenamento em temperatura ambiente			

- são dotadas de portas com fechamento automático (mola ou similar) e proteção contra roedores na abertura inferior?	1	0	1
- têm janelas e qualquer aberturas protegidas com telas milimétricas ⁷ ? ⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios.	1	0	1
- são dotadas de estrados fixos ou móveis que permitam fácil acesso para a higienização ¹¹ ? ¹¹ Estrados móveis, com altura mínima de 25cm do chão e distância de 10cm entre as pilhas	1	0	1
- os alimentos estão dispostos em prateleiras/ extremidades de forma que permita a circulação de ar entre as pilhas?	1	0	1
- as prateleiras são laváveis e impermeáveis?	1	0	1
Área de consumo/refeitório/salão de refeições			
- é dotada de forro, piso e paredes de material liso, lavável e impermeável?	1	0	1
- tem janelas e aberturas protegidas com telas milimétricas ⁷ removíveis? ⁷ Telas com espaços de 1 milímetro ou menos entre os fios.	1	0	1
- é ausente de ventiladores com fluxo de ar direto sobre plantas e/ou alimentos?	2	0	2
- as plantas, se existentes, são dispostas de forma a não contaminar os alimentos durante a distribuição? Quando adubadas, usa-se adubo inorgânico?	2	0	2
Área para depósito e higienização do material de limpeza			
é exclusiva e isolada das áreas de manipulação de alimentos?	4	0	4

Totais TS1 () TNA1 ()

NA: Não se aplica

PB1: pontuação do bloco 1

TS1: somatória das notas sim obtidas

TNA1: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K1: 91 (constante do bloco 1)

P1: 10 (peso do bloco)

$$PB1 = \frac{TS1}{K1 - TNA1} \times P1 \quad PB1 = \frac{()}{91 - ()} \times 10 \quad PB1 = ()$$

EQUIPAMENTOS PARA TEMPERATURA CONTROLADA

	Sim	Não	NA
Áreas de armazenamento em temperatura controlada			
- possui geladeiras ou câmaras em número suficiente e que mantenha os alimentos em temperatura segura?	4	0	4
- possui freezers (congeladores) em número suficiente para manter a temperatura congelada?	8	0	8
- A escola possui termômetro aferido?	8	0	8
-geladeira e/ou câmaras e/ou freezers apresentam-se em bom estado de funcionamento, higiene e manutenção constante?	8	0	8
- o balcão quente, para a distribuição, é regulado de forma a manter os alimentos a no mínimo 60 °C?	8	0	8

- as câmaras e/ou refrigeradores são regulados de modo a manter os alimentos nas temperaturas:			
- até 4°C para carnes, aves e pescados refrigeradas?	8	0	8
- até 4°C para alimentos pré-preparados ou pós cocção por no máximo 3 (três) dias?	8	0	8
- o freezer é regulado, garantindo aos alimentos temperaturas entre -12°C a 18°C?	8	0	8
- nos equipamentos de refrigeração e congelamento são ausentes o acúmulo de gelo e obstrução nos difusores de ar?	8	0	8

Totais TS2 () TNA2 ()

NA: Não se aplica

PB2: pontuação do bloco 2

TS2: somatória das notas sim obtidas

TNA2: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K2: 68 (constante do bloco 2)

P2: 15 (peso do bloco)

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

MANIPULADORES			
	Sim	Não	NA
- todos os funcionários estão uniformizados ¹² ? <small>¹² Uniforme limpo, com proteção para os cabelos, com sapatos fechados.</small>	2	0	2
- exames médicos são renovados periodicamente ou pelo menos uma vez por ano?	4	0	4
- os manipuladores trabalham sem afecções clínicas ¹³ ? <small>¹³ Feridas, micoses, sangramentos, coriza, infecções respiratórias.</small>	4	0	4
- há ausência de adornos ¹⁴ ? <small>¹⁴ Brincos, pulseiras, alianças, relógios, colares, anel, piercings.</small>	2	0	2
- garante-se a ausência de barba?	2	0	2
- os cabelos são totalmente protegidos?	4	0	4
- o candidato ao emprego só é admitido após a realização de exames médicos e laboratoriais?	4	0	4
- todas as pessoas envolvidas no Serviço de Alimentação participaram de capacitação envolvendo Segurança de Alimentos?	4	0	4

Totais TS3 () TNA3 ()

NA: Não se aplica

PB3: pontuação do bloco 3

TS3: somatória das notas sim obtidas

TNA3: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K3: 26 (constante do bloco 3)

P3: 25 (peso do bloco)

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

RECEBIMENTO			
	Sim	Não	NA
Transporte de matéria-prima			
No recebimento são verificadas as características dos alimentos como: aparência, cor, odor, textura, consistência entre outros.	4	0	4
É verificada a integridade das embalagens dos alimentos no momento do recebimento?	8	0	8
- os produtos reprovados são devolvidos no ato do recebimento ou segregados e identificados para providências posteriores?	2	0	2
- é verificado o prazo de validade nos rótulos dos alimentos no momento do recebimento?	8	0	8

Totais TS4 () TNA4 ()

NA: Não se aplica

PB4: pontuação do bloco 4

TS4: somatória das notas sim obtidas

TNA4: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K4: 22 (constante do bloco 4)

P4: 10 (peso do bloco)

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

PROCESSOS E PRODUÇÕES			
	Sim	Não	NA
Higiene das mãos			
- os funcionários higienizam as mãos seguindo procedimento adequado e utilizando produtos recomendados para lavagem e desinfecção? umedecer as mãos e antebraços com água; lavar com sabonete líquido, neutro, inodoro; enxaguar bem as mãos e antebraços; secar as mãos com papel toalha descartável não reciclado ou qualquer outro método de secagem que não permita a recontaminação das mãos; aplicar anti-séptico, deixando secar naturalmente; os anti-sépticos utilizados, devem ter registro no MS para esta finalidade; pode ser utilizado sabonete líquido anti-séptico; neste caso, massagear as mãos e antebraços durante o tempo recomendado pelo fabricante.	8	0	8
Recebimento de matéria-prima			
- Os alimentos são retirados das caixas de papelão e/ou madeira em que são recebidos? São substituídos por monoblocos limpos ou sacos plásticos apropriados quando necessário?	2	0	2
Armazenamento de matéria-prima (embalagens fechadas)			
- há inexistência de produtos com validade vencida?	4	0	4
- o empilhamento de sacarias é feito de forma alinhada, não prejudicando o produto, respeitando empilhamento máximo recomendado pelo fornecedor?	2	0	2
- a ausência de caixas de papelão em áreas de armazenamento sob ar frio é respeitada? (exceto quando a área é específica para este fim)	4	0	4
- a retirada de produtos do estoque obedece ao sistema PEPS (Primeiro que entra é o primeiro que sai) ou PVPS (Primeiro que vence é o primeiro que sai)?	4	0	4
Armazenamento Pós-manipulação			

- os diferentes gêneros alimentícios, quando são armazenados em um único equipamento de refrigeração, estão dispostos de forma adequada ou seja produtos prontos na parte superior, produtos pré-preparados e/ou semi-prontos na parte intermediária e produtos crus na parte inferior. Nos compartimentos inferiores (tipo gaveta) apenas hortifruti.	4	0	4
As etiquetas contêm: nome do produto, prazo de validade de acordo com a rotulagem original e prazo de utilização de acordo com os critérios de uso?	2	0	2
- os alimentos prontos são colocados nas prateleiras superiores?	4	0	4
- os semi-prontos e/ou pré-preparados nas prateleiras do meio?	4	0	4
- e o restante dos alimentos, crus e outros, nas prateleiras inferiores?	4	0	4
- as portas dos equipamentos de refrigeração são mantidas fechadas?	4	0	4
Procedimentos de alimentos na preparação			
- as verduras, os legumes e as frutas que serão ingeridos crus e que serão ingeridos com casca são desinfetados de forma adequada, isto é, imersos em solução clorada (200 a 250 ppm) por 15 minutos, com enxágue posterior em água potável?	8	0	8
- as frutas manipuladas, verduras e os legumes não desinfetados são submetidos à cocção (70°C no seu interior) ou permanecem imersas em fervura por no mínimo 1 minuto?	8	0	8
Processo de descongelamento			
- o descongelamento é feito sob refrigeração a 5°C ou forno de convecção ou microondas?	8	0	8
Controles e Registros			
- Existe Manual de Boas Práticas na escola, de acesso aos manipuladores de alimento?	8	0	8
Há registro:			
- do controle de temperatura ou características dos produtos no ato do recebimento?	8	0	8
- do controle de temperatura ou características dos alimentos ou preparações durante a produção?	8	0	8
- dos alimentos ou preparações durante a distribuição?	8	0	8
- Existe na escola documento que comprove a potabilidade da água?	8	0	8
Existe os 4 POPs (Procedimento Operacional Padronizado) obrigatórios na escola, de acesso aos manipuladores de alimentos? (POP Higienização de instalações, equipamentos e móveis; POP Controle integrado de vetores e pragas urbanas; POP Higienização do reservatório; POP Higiene e saúde dos manipuladores)	8	0	8
Guarda de amostras			
São guardadas amostras (100g/100mL) de todos os alimentos preparados, incluindo bebidas (100mL), em embalagens apropriadas para alimentos, de primeiro uso, identificadas com no mínimo a denominação e data da preparação, armazenadas por 72 horas sob refrigeração, em temperatura inferior a 5° C?	1	0	1
Processo de dessalgue			
- o dessalgue é realizado sob condições seguras? ¹⁵ ¹⁵ trocas de água a cada 4 h ou em água sob refrigeração ou por meio de fervura	8	0	8
Procedimentos para cocção e reaquecimento			
- carnes, aves e peixes são cozidos completamente? (carnes e aves atingem a cor cinza?)	8	0	8
Procedimentos para distribuição			

- os alimentos na distribuição não ultrapassam duas horas a partir do término do preparo até distribuição?	8	0	8
Procedimentos para Utilização de Sobras			
- os alimentos preparados obedecem a uma programação de quantidades com o objetivo de não ocorrerem sobras?	4	0	4
Cuidados com ovos			
- é inexistente a utilização de ovos crus no preparo de pratos não submetidos à cocção ?	8	0	8
- ovos cozidos, ou utilizados em preparações, passam por processo de cocção adequado? (clara e gema duras)	8	0	8
Transporte de alimentos prontos			
- os veículos de transporte são revestidos de material impermeável, lavável e atóxico?	2	0	2
- tais veículos apresentam-se em boas condições de higiene e conservação?	2	0	2
- as temperaturas dos alimentos transportados são monitoradas e registradas?	8	0	8
- é assegurada a inexistência de pessoas ou animais no mesmo compartimento onde são transportados os alimentos?	2	0	2
- alimentos prontos refrigerados são transportados até 10°C?	8	0	8
- alimentos prontos sob aquecimento são transportados a 60°C ou mais?	8	0	8
- as refeições prontas para o consumo imediato são adequadamente transportadas em recipientes hermeticamente fechados?	8	0	8

Totais TS5 () TNA5 ()

NA: Não se aplica

PB5: pontuação do bloco 5

TS5: somatória das notas sim obtidas

TNA5: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K5: 201 (constante do bloco 5)

P5: 30 (peso do bloco)

$$PB5 = \frac{TS5}{K5 - TNA5} \times P5 \quad PB5 = \frac{()}{201 - ()} \times 30 \quad PB5 = ()$$

HIGIENIZAÇÃO AMBIENTAL			
	Sim	Não	NA
Lixo/Esgotamento sanitário			
- o lixo é disposto adequadamente em recipientes constituídos de material de fácil limpeza, revestidos com sacos plásticos e tampados?	2	0	2
- a área de lixo externo é isolada ou tratada de forma a evitar contaminação?	2	0	2
Higiene das Instalações			
- o lixo é retirado diariamente e sempre que necessário?	2	0	2
- a higiene ambiental é mantida por meio de adequadas e aprovadas ¹⁶ técnicas de limpeza, enxágue e desinfecção? É realizado por meio de água e sabão?	4	0	4

¹⁶ Utilizando água, sabão, desinfetante por 15 minutos e enxágue, ou utilizar desinfecção por calor (água quente) por 15 minutos

- são utilizadas escovas e esponjas de material não abrasivo, as quais são constituídas de fibras que não se desprendem com o uso?	4	0	4
- os produtos de limpeza e desinfecção utilizados são registrados no Ministério da Saúde?	4	0	4
- os utensílios de limpeza (panos, rodos e etc.) que são usados nas áreas de manipulação e processamento são diferenciados dos panos de limpeza de sanitários?	4	0	4
- nas áreas de manipulação e processamento, é inexistente a prática de varrer o piso a seco?	2	0	2
- quando são utilizados rodos para secar superfícies que entram em contato com alimentos, estes são exclusivos, não destinados para outros fins?	2	0	2
Higiene de utensílios/equipamentos/outros materiais			
- os produtos utilizados para limpeza e desinfecção são registrados no Ministério da Saúde?	4	0	4
- a desinfecção química de utensílios e equipamentos é feita de forma adequada ¹⁶ ? <small>¹⁶ com solução clorada entre 100 a 250 ppm, com tempo mínimo de contato de 15 minutos e adequado enxágue final. E/ou com álcool 70% pelo tempo suficiente para secar naturalmente e sem enxágue final? E/ou a desinfecção é pelo calor? (15 minutos de imersão em água fervente, no mínimo a 80°C, sem necessidade de enxágue)</small>	8	0	8
- são protegidos contra poeira, insetos e roedores? São guardados sob proteção?	4	0	4
- as bancadas e mesas de apoio são higienizadas após o retorno ao trabalho e/ou troca de turno?	4	0	4
- os utensílios e equipamentos são secos naturalmente ou sem a utilização de panos?	2	0	2
Panos de limpeza descartáveis, quando utilizados em superfícies que entram em contato com alimentos, são descartados a cada 2 horas, não excedendo 3 horas, não sendo utilizados novamente?	8	0	8
Panos de limpeza não descartáveis, quando utilizados em superfícies que entram em contato com alimentos, são trocados a cada 2 horas, não excedendo 3 horas e são higienizados através de esfregação com solução de detergente neutro, desinfetados através de fervura em água por 15 minutos ou em solução clorada a 200ppm, por 15 minutos, e enxaguados com água potável e corrente?	8	0	8
As esponjas de louça são fervidas diariamente durante 5 minutos?	4	0	4
Controle de Pragas e Vetores Urbanos			
- é feito controle de pragas por empresa terceirizada?	8	0	8
- são ausentes as evidências de roedores, baratas e insetos entre as aplicações?	4	0	4
- existe na escola documento que comprove o controle integrado de pragas e vetores?	4	0	4

Totais TS6 () TNA6 ()

NA: Não se aplica

PB6: pontuação do bloco 6

TS6: somatória das notas sim obtidas

TNA6: somatória das notas não aplicáveis obtidas

K6: 84 (constante do bloco 6)

P6: 10 (peso do bloco)

$$PB6 = \frac{TS6}{K6 - TNA6} \times P6 \quad PB6 = \frac{()}{84 - ()} \times 10 \quad PB6 = ()$$

CLASSIFICAÇÃO DAS UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO ESCOLARES**PE:** pontuação da Unidade de Alimentação e Nutrição Escolar**PE:** PB1+ PB2+ PB3+ PB4+ PB5+ PB6**PE = ()**

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