



ANA RITA CORTES LOPES

Licenciada em Biologia Celular e Molecular

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BOAS PRÁTICAS DE HIGIENE EM ESTABELECIMENTOS NO CONCELHO DE ALMADA

MESTRADO EM TECNOLOGIA E SEGURANÇA ALIMENTAR

Universidade NOVA de Lisboa
Novembro, 2022

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BOAS PRÁTICAS DE HIGIENE EM ESTABELECIMENTOS NO CONCELHO DE ALMADA

ANA RITA CORTES LOPES

Licenciada em Biologia Celular e Molecular

Orientadora: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,
Professora Associada, Universidade NOVA de Lisboa

Coorientadores: Dr. Miguel Abreu Nunes de Almeida,
Médico Veterinário Municipal, Câmara Municipal de Almada

Júri:

Presidente: Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte,
Professora Auxiliar, Universidade NOVA de Lisboa

Arguentes: Dra. Ana Maria Ribeiro Marques Lopes,
Câmara Municipal de Almada

Orientador: Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando,
Professora Associada, Universidade NOVA de Lisboa

Avaliação microbiológica de boas práticas de higiene em estabelecimentos no concelho de Almada

Copyright © Ana Rita Cortes Lopes, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Apesar desta dissertação ser de carácter individual, existiram diferentes contributos, apoios e incentivos, sem os quais não a teria conseguido redigir.

À Professora Doutora Ana Luísa Almaça da Cruz Fernando, por ter aceitado ser minha orientadora e por toda a disponibilidade e compreensão.

Ao Dr. Miguel Almeida, por ter aceitado ser meu coorientador e por toda a disponibilidade demonstrada, acompanhamento e colaboração.

À *NOVA School of Science and Technology* e à Câmara Municipal de Almada por me permitirem utilizar as suas instalações e equipamentos e colocar à disposição material e viaturas que possibilitaram a recolha e análise de amostras microbiológicas assim como às instituições e empresas visitadas que aceitaram colaborar com este trabalho, pela disponibilidade e abertura com que me receberam, possibilitando a concretização deste estudo.

À Mestre Ana Lopes, pela simpatia e compreensão. Pelo seu apoio prestado ao longo do estágio e por me ajudar a ultrapassar as dificuldades.

À Assistente Técnica Lina Simões por me ter dado um pouco de si, pessoal e profissionalmente, e ter aceitado um pouco de mim. Pela sua amizade, disponibilidade, tempo e incentivo.

À Professora Maria Paula, pela sua disponibilidade no esclarecimento de qualquer dúvida referente ao laboratório.

Aos meus colegas de curso Edgar Perestrelo e Cláudia Vieira pelas palavras de encorajamento em dias longos passados juntos no laboratório. Às minhas colegas estagiárias Mafalda Pinheiro e Marta Dias pela sua amizade, por todo o apoio, por estarem sempre lá quando mais precisei.

Aos meus pais, Carlos e Palmira, irmão João, amigos Carla, Júlio, Susana, Joel, Sassá e Fred e namorado João, por sempre me apoiarem e incentivarem a fazer mais e melhor. Sem vocês não teria conseguido ultrapassar os dias mais difíceis.

A todos, o meu muito obrigada!

RESUMO

A preocupação com a segurança alimentar tem vindo a crescer nos últimos anos. Com o avanço da tecnologia, o progresso da sociedade e o crescimento populacional, foi necessário também um desenvolvimento na produção de alimentos, que resultou numa cadeia alimentar mais extensa e complexa.

O objetivo desta dissertação é o de avaliar as boas práticas de higiene em alguns locais de confeção e comércio de géneros alimentícios no concelho de Almada. Desta forma, foram feitas análises microbiológicas a mãos de manipuladores de alimentos, utensílios e superfícies que contactam com alimentos em diferentes tipos de estabelecimentos (Refeitórios Escolares, cantinas de Instituições particulares de solidariedade social - IPSS, estabelecimentos de Restauração e Bebidas, estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado). Com a finalidade de perceber se a higienização dos mesmos era eficaz, foram efetuadas colheitas antes e depois do procedimento de higienização.

Inicialmente as análises focaram-se apenas na pesquisa de Microrganismos Totais Viáveis (MTV), e os resultados mostraram que os estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado foram os que apresentaram indicadores de higiene menos aceitáveis. De modo a caracterizar melhor a higienização destes estabelecimentos, e na tentativa de identificar causas que possam ajudar a compreender melhor as dificuldades que estes estabelecimentos apresentam na higienização, foram efetuadas novas colheitas. Assim, foi realizado apenas para estes estabelecimentos análises a mãos de manipuladores de alimentos, utensílios e superfícies que contactam com alimentos, tendo-se pesquisado e quantificado microrganismos mesófilos (30°C), microrganismos psicrotróficos,

Enterobacteriaceae, bolores e leveduras, enterococos e *Staphylococcus aureus*. Foi possível averiguar que muitos destes parâmetros também estavam em condições de higiene não aceitável.

Após a análise dos resultados foram propostas de ações de melhoria nestes estabelecimentos, tendo sido destacado a importância da necessidade de dar formação aos manipuladores de alimentos, a qual deve ser adequada e acessível, de modo a que os conhecimentos adquiridos sejam corretamente aplicados.

Termos-Chave: Segurança alimentar; Avaliação microbiológica; Higienização; Mãos; Utensílios; Superfícies.

ABSTRACT

Concern about food safety has been growing in recent years. Continuous technological developments and populational growth have been demanding improvements to food production resulting in an increasingly complex food chain.

The goal of this dissertation is to evaluate hygiene practices in some food service establishments and retail food stores in the municipality of Almada. The hands of food handlers, utensils, and surfaces in contact with foodstuffs underwent microbiological analysis in school cafeterias, canteens in Private Institutions of Social Solidarity (IPSS), catering establishments, fishmongers, and butcher shops. Samples were taken both before and after sanitation routines.

Initially, the analyses focused exclusively on total viable count (TVC) whose findings suggest that butcher shops and fishmongers are the establishments with least acceptable sanitation conditions. Further samples were taken from these establishments as an attempt to better understand these results and their underlying causes. The subsequent analyses also took yeasts and molds (fungi), mesophiles, psychrotrophs, *Enterobacteriaceae*, enterococci and *Staphylococcus aureus* into consideration with results showing values above their respective sanitation thresholds.

Several proposals were given after the analyses, namely, to improve the training of food handlers so that food safety practices are correctly enforced.

Keywords: Food safety; Microbiological analyses; Sanitation; Hands; Utensils; Surfaces.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Motivação e descrição do problema.....	1
1.2	A Importância da Segurança Alimentar	2
1.2.1	Segurança alimentar em Refeitórios Escolares e IPSS.....	5
1.2.2	Segurança alimentar em estabelecimentos de Restauração e Bebidas	6
1.2.3	Segurança alimentar em estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado (Talhos e Peixarias).....	7
1.3	Boas práticas de higiene para a obtenção de alimentos seguros.....	8
1.3.1	Higienização das mãos dos manipuladores de alimentos	9
1.3.2	Higienização dos utensílios e superfícies.....	10
1.3.3	Formação dos manipuladores de alimentos	11
2	MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1	Local de estágio.....	13
2.2	Plano de estudo.....	14
2.3	Procedimento de recolha e preparação de amostras.....	15
2.4	Metodologia de inoculação e incubação	16
2.4.1	Contagem de MTV a 30 °C e microrganismos psicrotróficos	17
2.4.2	Contagem de Fungos.....	17
2.4.3	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	19
2.4.4	Contagem de <i>Enterococcus sp.</i>	19
2.4.5	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	19

3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
3.1	Resultados das análises a MTV a 30 °C.....	21
3.1.1	Análise a mãos de manipuladores de alimentos	21
3.1.2	Análise a utensílios dos diferentes estabelecimentos	26
3.1.3	Análise a superfícies dos diferentes estabelecimentos	30
3.2	Resultados das análises a estabelecimentos de comércio a retalho de carne	35
3.2.1	Resultados das análises a MTV a 30 °C	35
3.2.2	Resultados das análises a microrganismos psicrotróficos	38
3.2.3	Resultados das análises a Fungos	41
3.2.4	Resultados das análises a <i>Enterobacteriaceae</i>	42
3.2.5	Resultados das análises a <i>Enterococcus sp.</i>	44
3.2.6	Resultados das análises a <i>Staphylococcus aureus</i>	45
3.3	Resultados das análises a estabelecimentos de comércio a retalho de pescado.....	46
3.3.1	Resultados das análises a MTV a 30 °C	47
3.3.2	Resultados das análises a microrganismos psicrotróficos	49
3.3.3	Resultados das análises a Fungos	53
3.3.4	Resultados das análises a <i>Enterobacteriaceae</i>	54
3.3.5	Resultados das análises a <i>Enterococcus sp.</i>	56
3.3.6	Resultados das análises a <i>Staphylococcus aureus</i>	57
4	CONCLUSÃO	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 - Métodos de recolha utilizados. A: Zaragatoa com o seu tubo de ensaio contendo o líquido de transporte (Techical Service (2013) TS/5-42. https://www.tscswabs.co.uk/Products/158/TS-5-42-10ml-Neutralising-Buffer-in-tube-Includes-a-polystyrene-breakable-shaft-with-Polyester-dacron-tip-swab-in-peel-pouch). B: Zaragatoas artesanais depois de utilizadas, com os seus frascos respetivos contendo o líquido de transporte. C: Placas de contacto (Frilabo (2021) Placas de Contacto de 55mm. https://www.frilabo.pt/categoria-produto/reagentes-meios-kits/microbiologia-reagentes-meios-e-kits/meios-de-cultura/placas-de-contacto-de-55mm/).....	16
Figura 2.2 - Exemplos de placas de Petri, depois do período de incubação para MTV a 30 °C, desde a diluição 10 ⁰ até à diluição 10 ⁻⁴ (da esquerda para a direita).....	17
Figura 2.3 - Placas de Petri com o meio <i>Rose Bengal</i> , antes de inoculadas.....	18
Figura 2.4 - Inoculação por espalhamento de uma amostra numa placa de Petri contendo o meio <i>Rose Bengal</i> , com recurso a um espalhador.....	18
Figura 3.1 - Análise de MTV a 30 °C em 15 mãos de manipuladores de alimentos de Refeitórios Escolares, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.....	22
Figura 3.2 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos de cantinas de IPSS, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.....	23
Figura 3.3 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de Restauração e Bebidas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.....	24
Figura 3.4 - Análise de MTV a 30 °C em 12 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.....	24
Figura 3.5 - Análise de MTV a 30 °C em 7 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.....	25

Figura 3.6 - Análise de MTV a 30 °C em 15 facas (F) utilizadas em Refeitórios Escolares, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	27
Figura 3.7 - Análise de MTV a 30 °C em 9 facas (F) e uma colher de pau (CP) utilizadas em cantinas de IPSS, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	28
Figura 3.8 - Análise de MTV a 30 °C em 7 facas (F), 2 pinças e uma concha utilizadas em estabelecimentos de RB, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	28
Figura 3.9 - Análise de MTV a 30 °C em 11 facas (F) e uma picadora utilizadas em estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	29
Figura 3.10 - Análise de MTV a 30 °C em 9 facas (F) utilizadas em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	29
Figura 3.11 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	36
Figura 3.12 - Análise de MTV a 30 °C em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	37
Figura 3.13 - Análise de MTV a 30 °C em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	38
Figura 3.14 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	39
Figura 3.15 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	39
Figura 3.16 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	40
Figura 3.17 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	42
Figura 3.18 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	43
Figura 3.19 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	44
Figura 3.20 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	47
Figura 3.21 - Análise de MTV a 30 °C em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	48

Figura 3.22 - Análise de MTV a 30 °C em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	49
Figura 3.23 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	50
Figura 3.24 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	51
Figura 3.25 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	52
Figura 3.26 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.	54
Figura 3.27 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	55
Figura 3.28 - Análise de <i>Enterobacteriaceae</i> em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm ²	56

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 - Contagem de MTV a 30 °C em 24 superfícies de Refeitórios Escolares, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm ²	31
Tabela 3.2 - Contagem de MTV a 30 °C em 14 superfícies de cantinas de IPSS, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm ²	32
Tabela 3.3 - Contagem de MTV a 30 °C em 10 superfícies de estabelecimentos de Restauração e Bebidas, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm ²	33
Tabela 3.4 - Contagem de MTV a 30 °C em 16 superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm ²	34
Tabela 3.5 - Contagem de MTV a 30 °C em 2 superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm ²	34
Tabela 3.6 - Contagem de fungos em 10 facas antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	41
Tabela 3.7 - Contagem de fungos em 6 Bancadas metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças (B) antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	41
Tabela 3.8 - Contagem de <i>S. aureus</i> em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	45
Tabela 3.9 - Contagem de <i>S. aureus</i> em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	45
Tabela 3.10 - Contagem de <i>S. aureus</i> em 6 bancadas metálicas (BM), 1 picadora e 3 balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	46
Tabela 3.11 - Contagem de fungos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm ²	53

SIGLAS E ABREVIATURAS

AH	Antes da higienização
APHA	<i>American Public Health Association</i>
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
ASVM	Autoridade Sanitária Veterinária Municipal da Câmara Municipal de Almada
CMA	Câmara Municipal de Almada
DH	Depois da higienização
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)
FIES	<i>Food Insecurity Experience Scale</i>
Fig.	Figura
HACCP	<i>Hazard Analysis and Critical Control Point</i> (Análise de Perigos e Controlo dos Pontos Críticos)
HPA	<i>Health Protection Agency</i>
inc.	Incontável
IPSS	Instituição Particular de Solidariedade Social
MTV	Microrganismos Totais Viáveis
RB	Restauração e Bebidas
RE	Refeitório Escolar

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SA	Segurança Alimentar
ufc	Unidades formadoras de colónia
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial de Saúde)

INTRODUÇÃO

1.1 Motivação e descrição do problema

A Organização das Nações Unidas (ONU) foi criada com o propósito de melhorar o mundo em que vivemos, contribuindo para a paz e para o desenvolvimento mútuo dos países-membros. Desde a sua criação, esta organização deparou-se com diferentes desafios em áreas distintas. É reconhecido que acabar com a pobreza e outras privações devem andar de mãos dadas com estratégias que melhorem a saúde e a educação, reduzindo a desigualdade e estimulando o crescimento económico – ao mesmo tempo que trabalham para preservar o nosso planeta.

Em 2015, foi definida a Agenda 2030 (ano em que os desafios deverão ser cumpridos) constituída por 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), dos quais destaco os seguintes:

- Erradicar a fome, alcançar a segurança alimentar, melhorar a nutrição e promover a agricultura sustentável. Para tal propõem acabar com a fome e garantir o acesso de todas as pessoas (em particular os mais pobres e as pessoas em situação de vulnerabilidade, incluindo crianças) a alimentos seguros, nutritivos e suficientes durante todo o ano. Um dos indicadores para este alvo é a prevalência de insegurança alimentar moderada ou grave na população com base na *Food Insecurity Experience Scale* (FIES).
- Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para pessoas de todas as idades. Propõem reduzir substancialmente o número de mortes e doenças por produtos químicos perigosos, poluição e contaminação do ar, da água e do solo. Um dos indicadores para este propósito é a taxa de mortalidade atribuída a envenenamento não intencional.

Estes ODS têm em conta a atuação de microrganismos prejudiciais à nossa saúde por diferentes contextos. No primeiro objetivo referido encontramos a menção a alimentos seguros, o que inclui alimentos isentos de contaminação. Assim como no seu indicador, FIES, reforça que é necessário que a alimentação além de suficiente, seja segura. Quanto ao segundo objetivo, os microrganismos podem ser a causa da contaminação do ar, da água e do solo. Este tipo de contaminação pode também levar à contaminação de alimentos se estes componentes estiverem em contacto com os mesmos.

O objetivo desta dissertação é averiguar a existência de microrganismos em alguns locais de confeção e comércio de géneros alimentícios. Desta forma, foram feitas análises microbiológicas a mãos de manipuladores de alimentos, utensílios e superfícies que contactam com alimentos em diferentes tipos de estabelecimentos. Com a finalidade de perceber se a higienização dos mesmos era eficaz, foram efetuadas colheitas antes e depois deste procedimento. Inicialmente as análises focaram-se apenas na pesquisa de Microrganismos Totais Viáveis (MTV), sendo posteriormente realizadas também pesquisas adicionais de outros tipos de microrganismos. As amostras analisadas foram colhidas nas mãos de manipuladores, em utensílios e em superfícies.

1.2 A Importância da Segurança Alimentar

A preocupação com a segurança alimentar (SA) tem vindo a crescer em anos recentes. Com o avanço da tecnologia, o progresso da sociedade e o crescimento populacional, foi necessário também um desenvolvimento na produção de alimentos, que resultou numa cadeia alimentar mais extensa e complexa (Afonso, 2008). A complexidade e extensão desta cadeia tornou necessário o desenvolvimento de novos métodos, para que o alimento final fosse seguro para consumo. Assim, a partir dos procedimentos criados para o programa espacial na década de 1970 nos Estados Unidos da América, foi adaptado um novo sistema para regular a indústria de alimentos: Análise de Perigos e Controlo dos Pontos Críticos (*Hazard Analysis and Critical Control Point* - HACCP). Este sistema abrange princípios que são mais sistemáticos focando-se na identificação, avaliação, controlo e prevenção de riscos em todas as fases da produção de alimentos (Cowan, 2012). Este método consiste numa abordagem sistemática e estruturada de identificação de perigos e da probabilidade da sua ocorrência em todas as etapas da produção e confeção de alimentos, definindo medidas para o seu controlo. É um sistema preventivo que resulta da aplicação do bom senso a princípios técnicos e científicos (Vaz *et al.*, 2000).

Em 1974 foi definido, na Cimeira Mundial da Alimentação, o conceito de "segurança alimentar e nutricional" como:

"...availability at all times of adequate world food supplies of basic foodstuffs to sustain a steady expansion of food consumption and to offset fluctuations in production and prices..." (Nações Unidas, 1975).

Este conceito de segurança alimentar está muito relacionado com a expressão inglesa *food security*, que em 2001 foi descrita pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) como:

"a situation that exists when all people, at all times, have physical, social and economic access to sufficient, safe and nutritious food that meets their dietary needs and food preferences for an active and healthy life" (FAO, 2002).

Desta forma, a SA está dividida em *food security* e *food safety*. A primeira é apresentada como a certeza de que a população tem acesso físico, social e económico a uma variedade de alimentos nutritivos em todos os momentos de forma estável ou continua. Já o conceito de *food safety* implica a higiene dos mesmos para evitar a transmissão de doenças envolvendo os vários processos a que estes estão sujeitos, desde a manipulação ao armazenamento (Walls *et al.*, 2019).

Quando existe a transmissão de uma doença por meio de um alimento, significa que este apresentava um perigo alimentar, que não foi eliminado. Um perigo alimentar é definido no *Codex Alimentarius* como um agente que está, ou tem condições de estar, nos alimentos e que pode provocar um efeito adverso à saúde (FAO/WHO, 2005). Numa tentativa de agrupar os diversos perigos de origem alimentar, indicam-se as três principais categorias: perigos físicos, químicos e biológicos. Atualmente estima-se que existam mais de 5 mil perigos diferentes que podem ser transmitidos pelos alimentos, repartidos entre as moléculas químicas, os agentes biológicos e os físicos (Bernardo, 2006). Esta dissertação vai focar-se exclusivamente em perigos biológicos, como já referido.

A maioria dos alimentos são ótimos meios para o desenvolvimento de microrganismos, devido à sua elevada atividade de água (a_w) e gama de pH. Desta forma, uma vez contaminados, estes podem ser um veículo para a proliferação de microrganismos. As doenças de origem alimentar, provocadas por microrganismos, são uma das preocupações de saúde pública a nível mundial. Estima-se que 90% das doenças transmitidas por alimentos sejam provocadas por microrganismos. Embora se conheçam mais de 250 tipos diferentes de bactérias, vírus e parasitas causadores de doença de origem alimentar, apenas alguns ocorrem frequentemente (ASAE, 2019).

A grande maioria das doenças causadas por microrganismos têm origem em bactérias. As bactérias são microrganismos unicelulares muito simples, o que favorece a sua rápida multiplicação quando estão reunidas condições favoráveis para tal. De um modo geral, as bactérias crescem em ambientes com elevada atividade de água, isto é, valores entre 0,86 a 0,99, e, por norma, preferem ambientes com pH neutro e um intervalo de temperatura entre os 20 e os 45 °C.

As bactérias patogénicas podem causar doença através de três mecanismos: "infecção", "intoxicação" e "toxinfecção" (Baptista e Venâncio, 2003). A "infecção" acontece quando são ingeridas bactérias prejudiciais viáveis nos alimentos, como por exemplo a *Salmonella*, *Shigella* e *Bacillus cereus*. Após a ingestão, estas proliferam e a infecção acontece se estas atingem um número tal que causa doença. A "intoxicação alimentar" é a doença provocada pela ingestão de alimentos que contêm toxinas, mesmo que os microrganismos que lhes tenham dado origem tenham sido eliminados. Finalmente, a "toxinfecção" corresponde ao caso de doença mediada por toxinas produzidas no interior do organismo humano após ingestão do alimento contaminado por bactérias. Por exemplos as bactérias *Vibrio cholerae* e *Clostridium perfringens*, quando ingeridas, sobrevivem ao ambiente ácido do estômago, entram no intestino e são capazes de produzir toxinas (WHO, 2008).

Bactérias como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* e *Shigella* pertencem ao grupo das *Enterobacteriaceae* que é uma família Gram-negativa que tem origem no trato intestinal animal ou humano, em plantas ou no meio ambiente. As *Enterobacteriaceae* são um bom indicador de contaminação fecal e facilmente eliminadas pelo calor, sendo muitas vezes utilizadas para aferir o estado geral de higiene de um produto alimentar (HPA, 2009). Algumas bactérias desta família como *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, *E. coli* e *Salmonella spp.* (Souza *et al.*, 2016) podem contribuir para a formação de histamina em peixes como o atum ou a cavala e em alguns tipos de queijo se estes não forem processados adequadamente ou armazenados a uma temperatura de refrigeração adequada (Chung, 2019). Esta amina biogénica desempenha um papel fundamental na intoxicação escombroides que provoca um aumento da permeabilidade capilar, originando sintomas diversos, nomeadamente, edema, urticária, hemoconcentração e aumento da viscosidade do sangue; aumenta também a frequência cardíaca que explica as palpitações que por vezes ocorrem em casos de intoxicação por histamina (Maia, 2015).

Existe uma grande variedade de toxinas produzidas pela *E. coli* que, dependendo da estirpe envolvida, pode não representar qualquer perigo para o hospedeiro, ou

instigar a infecções que se traduz em diferentes sintomas. Por exemplo, a *E. coli* enterohemorrágica (*E. coli* O157:H7) provoca colite hemorrágica caracterizada por uma diarreia sanguinolenta, fortes dores abdominais, vômitos e ausência de febre. Enquanto a *E. coli* enterotoxigénica provoca sintomas como diarreia aquosa, febre baixa, cólicas abdominais, fadiga e náuseas. Os casos mais severos fazem lembrar a cólera com diarreia tipo água de arroz que pode conduzir à desidratação (Bell e Kyriakides, 1998).

Todas as pessoas, mesmo as saudáveis, são portadoras naturais de uma grande variedade de microrganismos, como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *E. coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Listeria* sp. e *Streptococcus* spp. (Baptista e Saraiva, 2003). Desta forma é essencial garantir que os manipuladores que contactam direta ou indiretamente com os alimentos não constituem fonte de contaminação para os mesmos (FAO, 2003).

1.2.1 Segurança alimentar em Refeitórios Escolares e IPSS

Uma Instituição Particular de Solidariedade Social (IPSS) tem vários âmbitos de intervenção tais como: segurança social, proteção na saúde, educação e habitação. Estas instituições surgiram como resposta às necessidades dos mais desfavorecidos e vulneráveis, tendo como principal objetivo a solidariedade social, dando respostas nas comunidades onde se inserem. Estas instituições apoiam cidadãos de todas as idades, tanto indivíduos como famílias, quer por invalidez ou falta de capacidade para o trabalho, quer por todas as situações de diminuição de meios de subsistência (Santos, 2013). Assim, muitas IPSS têm creches, berçários, infantários, lares e algumas também apoio domiciliário, o que significa confeccionar refeições para bebés, crianças, jovens, adultos e idosos. As IPSS estão equipadas com uma cozinha e têm gestão própria, sendo os funcionários da Instituição os responsáveis pela segurança alimentar das refeições servidas aos utentes.

As escolas e jardins de infância da rede pública estão equipadas com cozinhas e refeitórios, sendo que os responsáveis pela SA das refeições servidas aos utentes, são funcionários de uma empresa de restauração coletiva. Esta é contratada pelo município, cabendo-lhe assegurar a aquisição das matérias-primas necessárias para o fornecimento do número de refeições previstas, bem como a sua confeção e disponibilização às crianças e adultos.

Os cozinheiros são, por norma, responsáveis por encomendar a quantidade adequada dos diferentes géneros alimentícios necessários à confeção do número de refeições diárias e que, de uma forma geral, possuem alguma formação no âmbito da higiene e segurança alimentar, que os auxilia a confeccionar refeições seguras. Esta situação é especialmente importante, porque nestas instituições, o público-alvo são maioritariamente bebés, crianças e idosos, considerados grupos de risco, pela vulnerabilidade do seu sistema imunitário. A dose infetante de um microrganismo, necessária para causar doença, pode variar de indivíduo para indivíduo, mas alguém que se insere nos grupos de risco pode adoecer quando exposta a um número inferior de microrganismos patogénicos do que o necessário para causar doença num adulto saudável (Baptista e Venâncio, 2003).

1.2.2 Segurança alimentar em estabelecimentos de Restauração e Bebidas

De modo geral entende-se por restauração a atividade comercial que se ocupa da confeção e comercialização de algumas refeições principais e/ou refeições mais pequenas intercalares (Monteiro, 2010). Em Portugal os estabelecimentos de Restauração e Bebidas são definidos como: "estabelecimento destinado a prestar, mediante remuneração, serviços de alimentação e de bebidas no próprio estabelecimento ou fora dele, não se considerando contudo estabelecimentos de restauração ou de bebidas as cantinas, os refeitórios e os bares de entidades públicas, de empresas, de estabelecimentos de ensino e de associações sem fins lucrativos, destinados a fornecer serviços de alimentação e de bebidas exclusivamente ao respetivo pessoal, alunos e associados, e seus acompanhantes, e que publicitem este condicionamento" (Decreto-Lei n.º 10/2015, 2015).

Nestes estabelecimentos, a comida ou bebida é comercializada pronta a consumir não existindo nenhum processamento depois de adquirida. Assim sendo, a segurança dos alimentos e a sua inocuidade tomam uma especial importância. Se a comida for contaminada depois de preparada, não haverá nenhum processamento posterior que possa eliminar essa contaminação.

1.2.3 Segurança alimentar em estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado (Talhos e Peixarias)

A carne e o peixe, são géneros alimentícios que fazem parte da dieta alimentar da maioria dos portugueses, pelo que, em estabelecimentos de comércio a retalho como Talhos e Peixarias são comercializadas grandes quantidades destes alimentos e dos seus derivados, sendo por isso, vital para a saúde pública, garantir a SA nestes locais. Segundo a FAO, todas as entidades compreendidas na produção ou processamento de alimentos, desde o prado ao prato, têm a responsabilidade de garantir que o alimento é seguro e próprio para consumo (FAO/WHO, 2005).

A contaminação da carne por perigos físicos, químicos ou biológicos pode dar-se em vida do animal, no seu transporte para o local de abate, durante o abate e até sair do matadouro, no transporte para o local de venda, no local de venda ou pela manipulação feita pelo consumidor. Todo este circuito da carne (exceto a manipulação feita pelo consumidor) é sustentado por legislação da União Europeia, que tem o propósito de assegurar que o produto final, neste caso a carne, seja o mais seguro possível para o consumidor (ASAE, 2009). Por exemplo, em 2006 foram legislados valores máximos de certos contaminantes para a carne e produtos à base de carne, entre outros, como ocratoxina A, chumbo, cádmio, benzo(a)pireno, dioxinas e PCB (Regulamento (CE) nº 1881/2006). Destes contaminantes, destaca-se o de origem biológica, a ocratoxina A, que é uma micotoxina (toxina concebida por espécies de fungos filamentosos) produzida por algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*. Esta é considerada a ocratoxina mais tóxica devido à sua atuação nefrotóxica, hepatotóxica, neurotóxica, teratogénica, imunotóxica e carcinogénica (Khoury e Atoui, 2010). Da mesma forma, os microrganismos patogénicos encontrados na carne podem causar efeitos nocivos, se ingeridos. Os principais agentes envolvidos nas infeções e intoxicações alimentares relacionadas com o consumo de carne são as bactérias *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* e *Clostridium botulinum* (Duarte, 2014).

No processamento de pescado, os perigos biológicos têm origem no Homem, nos animais ou no ambiente. Por exemplo, a contaminação do pescado pode acontecer na linha de produção através dos manipuladores de alimentos ou pode ocorrer através do contato com superfícies contaminadas. A qualidade microbiológica do gelo utilizado na

conservação do pescado, é considerada outro fator importante para evitar a contaminação do produto. Na conservação do pescado, o gelo tem como principal função manter a temperatura a valores próximos de 0 °C, retardando assim o crescimento de microrganismos, responsáveis pela deterioração do pescado. O gelo, apesar de não ser um bom meio de crescimento para microrganismos, devido à falta de nutrientes, poderá funcionar como veículo de transporte de contaminantes para o pescado (Vieira *et al.*, 2004). As toxinas de origem natural - como as ficotoxinas e as tetrodotoxinas - e contaminantes químicos que se encontram nas águas, de forma natural ou como resultado da atividade antropogénica, podem constituir também um perigo associado ao pescado (Lopes, 2009). As ficotoxinas podem provocar intoxicações alimentares graves, como o envenenamento paralisante ou diarreico e as tetrodotoxinas provocam uma reação neurotóxica que pode ser letal. Entre os contaminantes químicos mais tóxicos encontrados no pescado estão os metais pesados tais como mercúrio, cádmio e chumbo, para os quais, assim como para a carne, existem teores máximos definidos para a sua presença na legislação europeia (Regulamento (CE) nº 1831/2003). A exposição prolongada a mercúrio pode provocar danos irreversíveis no sistema nervoso que podem conduzir à morte. O cádmio também tem um efeito tóxico no sistema nervoso, mas também pode atuar no sistema renal, pulmonar, cardiovascular e ósseo. Já o chumbo pode provar disfunções ao nível sistema nervoso central, no sistema hematopoiético, no sistema cardiovascular, nos rins, fígado e no sistema reprodutor (Lopes, 2009).

1.3 Boas práticas de higiene para a obtenção de alimentos seguros

Uma das causas mais comuns das doenças transmitidas por alimentos é a deficiente condição de higiene das superfícies de trabalho e dos manipuladores de alimentos. No que diz respeito a pessoas, a higiene pessoal refere-se à limpeza do corpo e das roupas de um indivíduo. Por ser um contributo decisivo para a salubridade do alimento final (Almeida *et al.*, 1995) desempenha um papel fundamental na prevenção de situações que possam colocar em risco a saúde do consumidor. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os manipuladores de alimentos são responsáveis por

aproximadamente 26% das causas de contaminação dos alimentos, existindo uma correlação direta entre as inadequadas práticas de higiene pessoal e a ocorrência de doenças de origem alimentar (Resende *et al.*, 2007).

Utensílios e superfícies mal higienizados podem ser outro fator de contaminação. Pela sua utilização em alimentos contaminados podem transferir agentes patogénicos para outros que se encontravam inócuos (contaminação cruzada). Desta forma, é necessário assegurar quer a higiene pessoal e os métodos de trabalho adequados, quer a higienização de superfícies e utensílios.

A maioria dos alimentos, excetuando os que foram esterilizados, têm alguma carga microbiana. Esta carga, no entanto, pode não ser um indicador de más práticas de higiene. Para verificar o estado de higiene dos alimentos são usados microrganismos indicadores de higiene, que, pela sua presença, podem indicar a potencial presença de um microrganismo patogénico, além de possíveis condições de higiene inadequadas (Forsythe, 2000). Estes indicadores incluem, entre outros, a contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos a 30 °C, os coliformes totais, a *E. coli*, membros da família *Enterobacteriaceae* e *S. aureus* (Lues e Tonder, 2007).

1.3.1 Higienização das mãos dos manipuladores de alimentos

As mãos são uma das principais fontes de contaminação bacteriana dos alimentos, sendo do senso comum que, uma adequada higienização e secagem das mesmas, são fatores importantes no controle da transmissão dos microrganismos. Vários estudos demonstraram que várias bactérias, como *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella sp.* conseguem sobreviver em mãos e em superfícies por horas, ou até dias após o contacto inicial com os microrganismos (Lues e Tonder, 2007). Igualmente, tem vindo a ser documentada a eficácia da realização das várias etapas inerentes ao processo de higienização das mãos na diminuição da flora bacteriana da superfície da pele (Borges *et al.*, 2007).

Para esse efeito, deverá ser efetuada uma correta lavagem e desinfecção das mãos, com recurso a equipamento adequado, nomeadamente um lavatório com torneira de comando não manual e preferencialmente de uso exclusivo para esse fim, com fornecimento de água corrente quente e fria. Deve ser usado um soluto bactericida (ou um sabonete líquido e um desinfetante), assim como toalhete de papel descartável e um recipiente para a deposição dos detritos com tampa acionada por pedal.

Além da correta lavagem e desinfecção das mãos, deve considerar-se a ausência de adornos, como anéis, pulseiras e relógios¹ (Regulamento (CE) nº 852/2004). Em particular, as unhas devem manter-se em bom estado com vista a prevenir os riscos de contaminação dos alimentos. Por serem áreas de difícil acesso, proporcionam um habitat que é bastante propício ao crescimento microbiano, podendo desta forma conter uma elevada carga de microrganismos, por vezes bastante difícil de remover. Logo, é recomendado que estejam curtas e sem verniz, não sendo adequado o uso de unhas postiças (Pragle *et al.*, 2007).

1.3.2 Higienização dos utensílios e superfícies

A higiene dos utensílios e superfícies que contactam com os alimentos é muito importante na prevenção da contaminação por microrganismos durante as diferentes manipulações. Especialmente, antes de serem utilizados em alimentos servidos crus ou alimentos na fase final de produção (Regulamento (CE) nº 852/2004). O equipamento e os utensílios devem ser feitos de material não tóxico, que permita uma fácil lavagem e desinfecção quando necessárias. Estes devem ser exclusivos de cada zona de confeção; a utilização de um código de cores para as placas de corte, facas e outros utensílios é importante para a prevenção de contaminações cruzadas (CAC, 2003).

A higienização, que engloba a lavagem e a desinfecção, dos utensílios e superfícies que contactam com alimentos, deve ser feita de forma regular (várias vezes ao dia) para prevenir contaminações. A lavagem é o processo físico para a remoção de sujidade que pode ser um fator propício à proliferação de microrganismos. Deve ser feita com água morna (aproximadamente 40 °C) e com detergente adequado. A desinfecção pode ser efetuada com recurso a diferentes procedimentos, sejam eles por uso de produtos químicos ou pela utilização de temperaturas elevadas que têm como propósito eliminar, em grande quantidade os microrganismos (Noronha, sem data).

¹ O único adorno tolerado é a aliança de casamento. Caso a pessoa a use, deve retirá-la quando lava as mãos e desinfetá-la. Esta não deve estar larga, e deve de preferência ser lisa.

1.3.3 Formação dos manipuladores de alimentos

A formação dos manipuladores é o fator mais importante na aquisição de conhecimentos, pelo que todos os manipuladores de géneros alimentícios são obrigados, por legislação, a possuir formação adequada em matérias de higiene e segurança alimentar. De acordo com o Regulamento (CE) n.º 852/2004 de 29 de abril, os operadores das empresas do sector alimentar devem assegurar que o pessoal que manipula produtos alimentares tem instrução e/ou formação adequadas para o desempenho das suas funções (Regulamento CE 852/2004, 2004).

Os responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do sistema de gestão de segurança alimentar devem receber formação adequada na aplicação dos princípios HACCP, que deve ser proporcional à dimensão e à natureza da empresa, criando por isso, paralelamente, um Plano de Formação a todos os trabalhadores de acordo com as responsabilidades e áreas de competência. Além da participação em cursos de formação, a formação pode ser obtida através de campanhas de informação por parte de organismos profissionais ou das autoridades competentes, guias de boas práticas, formação no local de trabalho, entre outros (DGAV, sem data).

Os programas de formação deverão incluir noções básicas de:

- Microbiologia geral;
- Higiene pessoal;
- Higiene das instalações;
- Higiene das operações de manipulação da carne;
- Higiene das operações de abate;
- Bem-estar animal – funcionários que contactem com os animais vivos;
- HACCP – responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção do sistema HACCP

Para além de prever regras gerais de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios, o Regulamento (CE) n.º 852/2004, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril, estabelece a obrigatoriedade de formação em matéria de higiene adequada à atividade profissional por parte de todos aqueles que manuseiam alimentos, sendo necessário reforçar a exigência da formação em matéria de higiene e segurança alimentar para todos os que intervêm na distribuição e venda de carnes e seus produtos. No caso concreto do setor das carnes, o curso de formação é organizado e ministrado por entidades, sem fins lucrativos, que sejam representativas dos operadores do sector da comercialização de carnes e seus produtos e que sejam reconhecidas para o efeito por despacho do Diretor-

Geral de Alimentação e Veterinária. A frequência com aproveitamento do curso de formação é atestada pela entidade que organizar e ministrar aquele, que emitirá o certificado comprovativo da formação realizada e o documento que certifique a formação realizada e que se destina à respetiva entidade patronal (Decreto-Lei n.º 147/2006 com as alterações introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 207/2008).

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local de estágio

Este estágio foi realizado no gabinete da Autoridade Sanitária Veterinária Municipal da Câmara Municipal de Almada. As colheitas, objeto de análise, foram efetuadas na área geográfica do concelho. Atualmente, o concelho de Almada é constituído por 5 freguesias e uniões de freguesias, nomeadamente (Assembleia Municipal de Almada, 2022):

- União das freguesias de Almada, Cova da Piedade, Pragal e Cacilhas
- União das freguesias de Charneca de Caparica e Sobreda
- União das freguesias de Caparica e Trafaria
- União das freguesias de Laranjeiro e Feijó
- Freguesia da Costa de Caparica

Os serviços municipais encontram-se dispersos pelo concelho de Almada, estando o gabinete da ASVM localizado no Estaleiro Municipal de Vale Figueira, Parque situado em Vale Figueira, união de freguesias de Charneca de Caparica e Sobreda.

Este gabinete depende hierárquica e disciplinarmente da Presidente da Câmara Municipal, e funcionalmente da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV). O Médico Veterinário Municipal é a Autoridade Sanitária Veterinária Concelhia, por nomeação da DGAV. O exercício de atividade e a carreira de Médico Veterinário Municipal (MVM), assim como as suas competências e deveres no âmbito das ciências médico veterinárias, encontram-se regulados pelo Decreto-Lei n.º 116/98, de 5 de maio e demais legislação em vigor. Para além de determinar a necessidade do MVM colaborar com o Ministério da Agricultura e Alimentação, sobretudo com a DGAV, e de promover a vigilância dos domínios da Saúde e Bem-estar Animal, e da Saúde Pública Veterinária

na área do respetivo município, confere-lhe o dever de salvaguardar a segurança de toda a cadeia alimentar (ASVM, 2019).

Para tal efeito, o MVM otimiza e executa ações de intervenção em toda a sua área de atuação, que incluem: o acompanhamento do início de atividades, assim como o processo de instalação ou modificação de instalações alimentares; controlo oficial de estabelecimentos alimentares; apoio técnico.

No âmbito do acompanhamento, efetuado de forma proactiva e pedagógica, são feitas várias vistorias para garantir a segurança alimentar em diferentes áreas. Em fevereiro de 2019, por exemplo, foi feita uma estimativa de estabelecimentos alvo a serem visitados num ano. Entre outros tipos de estabelecimentos, a ASVM pretendeu visitar (ASVM, 2019):

- Estabelecimentos do ensino público:
 - ↳ Creches e Jardins-de-Infância – 4 unidades
 - ↳ Jardins-de-Infância e Ensino Básico 1º Ciclo – 36 unidades
 - ↳ Ensino Básico 2º, 3º ciclos e Ensino Secundário – 19 unidades
 - ↳ Ensino Universitário – 1 unidade
- Instituições Particulares de Solidariedade Social - 35 unidades
- Estabelecimentos de venda a retalho de carne e seus produtos - 70 unidades
- Estabelecimentos de venda a retalho de pescado fresco ou congelado - 50 unidades
- Estabelecimentos de Restauração e Bebidas - 500 unidades

No decorrer das vistorias são verificadas várias situações que têm que ver não só com as condições de higiene e de conservação das instalações e equipamentos, mas também com as práticas de higiene implementadas ou com o cumprimento de determinados requisitos impostos por força da lei nesta matéria. Desta forma, é averiguado quais são os procedimentos de boas práticas de higiene que são adotados por cada estabelecimento. Neste sentido, e tendo em conta a variedade de possíveis locais a observar, foi decidido efetuar uma avaliação do estado de higiene de diferentes estabelecimentos, recorrendo para isso a análises microbiológicas a matrizes distintas.

2.2 Plano de estudo

Este estudo concentra-se na avaliação do estado de higiene dos diferentes estabelecimentos por meio de análises microbiológicas. Foram efetuadas análises às mãos de manipuladores de alimentos, utensílios e superfícies. As amostras a analisar, foram recolhidas por zaragatoa ou por placas de contacto e têm como objetivo principal

identificar qual o tipo de estabelecimento com mais MTV. Adicionalmente foi também verificada a eficiência da higienização realizada às mãos, utensílios e superfícies. Para este fim, foram colhidas amostras em pelo menos 5 locais de cada categoria (Refeitórios escolares, cantinas de IPSS, estabelecimentos de Restauração e bebidas, Talhos e Peixarias) em mãos, utensílios e superfícies antes e após a lavagem e desinfecção habitual.

Os resultados iniciais destacaram, pela negativa, duas categorias de estabelecimentos que revelaram um elevado número de MTV mesófilos por área analisada. Nestas duas categorias de estabelecimentos, foram feitas análises específicas a MTV mesófilos, psicrotróficos, fungos, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus sp.* e *S. aureus*. Estas análises foram realizadas em mãos, superfícies e facas, antes e depois da sua higienização com recurso aos produtos em uso nos estabelecimentos.

2.3 Procedimento de recolha e preparação de amostras

A maioria das amostras foi recolhida pelo método de zaragatoa, que compreende vários passos. Primariamente a zaragatoa de algodão seco é retirada da embalagem estéril original (Figura 2.1 A) e humedecida no líquido de transporte do tubo de ensaio, peptona-sal. Passando pelas mãos, através de movimentos rotativos e em todos os sentidos friccionando-se uma área que abranja a mão completa de cada manipulador, tendo especial atenção com as zonas mais problemáticas, como espaços interdigitais e unhas. Para os utensílios é feito o mesmo tipo de movimento na área total que se encontra em contacto com os alimentos (área total varia mediante o objeto analisado), os utensílios variam entre facas, pinças, conchas, etc. Já nas superfícies foi escolhida uma área padrão de 9 cm² (um quadrado de 3 x 3) e variam entre bancadas, pratos, tabuleiros, entre outros.

Após tal operação a zaragatoa era colocada no tubo de ensaio que continha o líquido de transporte (Figura 2.1 A), rotulada e guardada em mala térmica previamente refrigerada, para manter a temperatura entre os 0 e 4 °C, de maneira a evitar desenvolvimento ou destruição dos microrganismos antes da análise.

Também foi utilizado, na última recolha, num estabelecimento de comércio a retalho de pescado, um tipo diferente de zaragatoas (Figura 2.1 B). Estas foram feitas a partir de palitos com algodão na ponta e esterilizadas à parte dos seus frascos com líquido de transporte, solução de triptona-sal.

No caso concreto das superfícies, nas primeiras recolhas, foram utilizadas placas de contacto (Figura 2.1 C). O procedimento para recolha de amostras por este método é pressionar a placa de contacto com a tampa previamente retirada contra a superfície a analisar durante 10 segundos e fechar a caixa com a tampa. São guardadas da mesma forma que as zaragatoas, na mala térmica previamente refrigerada.

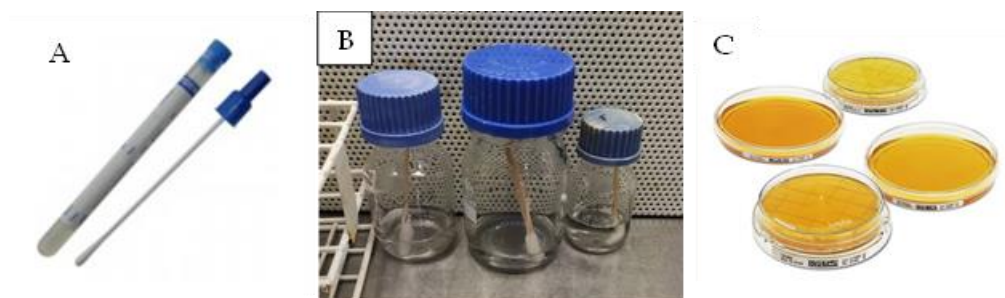


Figura 2.1 - Métodos de recolha utilizados. A: Zaragatoa com o seu tubo de ensaio contendo o líquido de transporte (Technical Service (2013) TS/5-42. <https://www.tscswabs.co.uk/Products/158/TS-5-42-10ml-Neutralising-Buffer-in-tube-Includes-a-polystyrene-breakable-shaft-with-Polyester-dacron-tip-swab-in-peel-pouch>). B: Zaragatoas artesanais depois de utilizadas, com os seus frascos respetivos contendo o líquido de transporte. C: Placas de contacto (Frilabo (2021) Placas de Contacto de 55mm. <https://www.frilabo.pt/categoria-produto/reagentes-meios-kits/microbiologia-reagentes-meios-e-kits/meios-de-cultura/placas-de->

As amostras recolhidas por zaragatoas forma submetidas também ao processo de diluição. Para tal foi feita a solução na qual as diluições ocorreriam, a solução triptonasal. Para 1 litro desta solução foi usada 1 g de tripton e 8,5 g de sal com 1 L de água destilada. Depois de feita a solução, foi distribuída por tubos de ensaio que foram esterilizados previamente à sua utilização, cada um contendo 9 ml desta solução.

2.4 Metodologia de inoculação e incubação

A metodologia de inoculação e incubação varia dependendo do microrganismo em análise e do método de recolha de amostra. Para o método de recolha por placas de contacto, usado unicamente para quantificar os microrganismos totais viáveis a 30 °C em superfícies, a sua inoculação foi aquando da recolha, uma vez que não é possível fazer diluições com placas. A incubação destas placas foi feita a 30 °C por 48 horas.

Para o método de recolha por zaragatoa foram efetuadas diluições da amostra e tempos e temperaturas diferentes, dependendo também do tipo de microrganismo a analisar.

2.4.1 Contagem de MTV a 30 °C e microrganismos psicrotróficos

Para a contagem total dos microrganismos a 30 °C e microrganismos psicrotróficos utilizou-se a metodologia descrita na Norma Portuguesa NP 4405 (2002), usando o método de incorporação de 1 ml de solução a analisar, em meio de cultura PCA (*Plate Count Agar*). O meio de cultura PCA possui um conjunto de nutrientes que favorece o crescimento da maioria das bactérias, ideal para contabilizar todos os microrganismos viáveis de uma amostra. Para 1 L deste meio foi utilizado 20,5 g de meio PCA, neste caso da marca *Bioakar*, para 1 L de água destilada. É posteriormente levado à autoclave para ser esterilizado.

Todas as amostras analisadas para microrganismos psicrotróficos foram incubadas, pelo menos, desde a diluição 10^{-1} até à diluição 10^{-4} em algumas das amostras a solução mãe (10^0) também foi inoculado. Já as amostras analisadas para MTV a 30 °C, as diluições variaram de amostra para amostra entre a diluição 10^0 a 10^{-4} e 10^{-2} a 10^{-4} , são descritas as diluições utilizadas para cada amostra nos resultados. Na Figura 2.2 está o exemplo de placas de Petri com o meio PCA e 1 ml de amostra, depois de incubadas com as diluições seriadas desde a diluição 10^0 até à diluição 10^{-4} (Fig. 2.2).

Para a contagem de MTV a 30 °C as placas inoculadas foram incubadas a 30 °C durante 48 horas e para a contagem de microrganismos psicrotróficos a incubação foi feita a 4 °C durante 7 dias. As colónias apresentam uma cor clara.

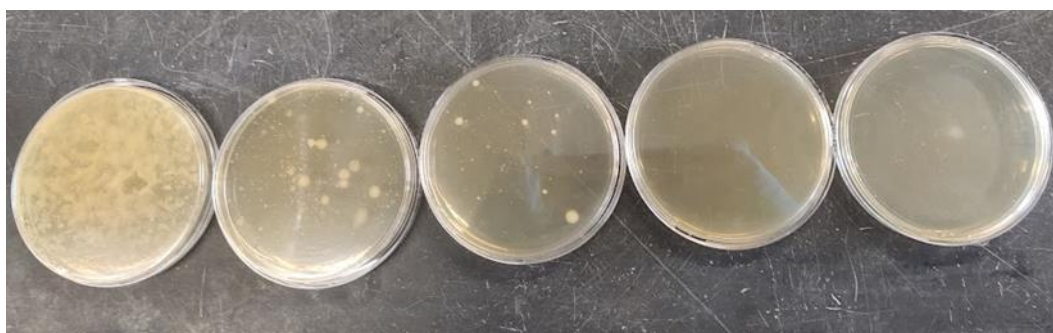


Figura 2.2 - Exemplos de placas de Petri, depois do período de incubação para MTV a 30 °C, desde a diluição 10^0 até à diluição 10^{-4} (da esquerda para a direita).

2.4.2 Contagem de Fungos

Para a contagem/pesquisa de bolores e leveduras (fungos) foi utilizada a metodologia descrita na Norma Portuguesa NP 3277 (1987). O meio de cultura utilizado para a pesquisa de bolores e leveduras foi o meio *Rose Bengal*. Para a realização de 1 L deste meio, foram diluídas 30 g de *Rose Bengal*, neste caso da marca *Bioakar*, com 1 L de

água destilada. Esta solução após esterilizada na autoclave, foi dividida pelas placas de Petri em condições de assépsia (Fig. 2.3) para depois estas serem inoculadas.



Figura 2.3 - Placas de Petri com o meio *Rose Bengal*, antes de inoculadas.

A amostra foi diluída desde a diluição 10^0 até à diluição 10^{-4} e estas foram inoculadas pelo método de espalhamento. Para cada placa de Petri contendo o meio foi colocada 0,2 ml de amostra a analisar e, de seguida, com o recurso a um espalhador esterilizado, espalhou-se o inóculo (Fig. 2.4).

As placas foram incubadas à temperatura de 25 °C durante 5 dias. As colónias de bolores apresentam micélio e as leveduras apresentam colónias pequenas, lisas ou rugosas, de cor uniforme, opacas ou brilhantes.

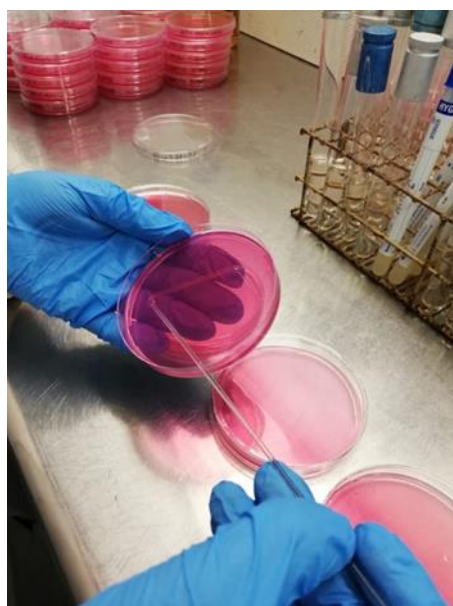


Figura 2.4 - Inoculação por espalhamento de uma amostra numa placa de Petri contendo o meio *Rose Bengal*, com recurso a um espalhador.

2.4.3 Contagem de *Enterobacteriaceae*

Para a contagem de *Enterobacteriaceae* utilizou-se a metodologia descrita na Norma Portuguesa NP 4137 (1991), usando o método de incorporação de 1 ml de inóculo a analisar, em meio de cultura *Violet Red Bile Glucose* (VRBG). A preparação deste meio é feita por diluir 39,5 g de meio VRBG, neste caso da marca Bioakar, num 1 L de água destilada. Este, ao contrário dos anteriores, não é levado à autoclave, é fervido em placas de aquecimento durante 2 minutos, em agitação constante.

Todas as amostras analisadas foram incubadas, pelo menos, nas diluições de 10^{-1} até 10^{-4} e, em alguns casos, a amostra inicial (diluição 10^0). A incubação foi feita à temperatura de 37 °C durante 24 horas. *Enterobacteriaceae* mostram colónias rosa-avermelhadas a arroxeadas após este período.

2.4.4 Contagem de *Enterococcus sp.*

Para a contagem de *Enterococcus sp.* foi utilizada a metodologia descrita na ficha técnica do meio *KF Streptococcus Agar* (Bioakar, sem data). A preparação deste meio é feita por misturar 68,4 g deste meio com 1 L de água destilada que depois é fervido em placas de aquecimento durante 5 minutos, em agitação constante. É-lhe juntado posteriormente 2 suplementos de TTC (cloreto de trifeniltetrazólio) previamente hidratados. Assim como no caso do meio *Rose Bengal*, este meio é distribuído por placas de Petri que serão posteriormente inoculadas.

Foram inoculadas pelo método de espalhamento, a amostra inicial e a diluição 10^{-1} . Para cada placa de Petri contendo o meio foi colocada 0,1 ml de amostra a analisar e, de seguida, com o recurso a um espalhador esterilizado, espalhou-se o inóculo (como ilustrado na Fig. 2.4).

As placas foram incubadas à temperatura de 43 °C durante 48 horas. As colónias de *Enterococcus sp.* apresentam uma cor característica entre o vermelho a castanho.

2.4.5 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Para a contagem de *Staphylococcus aureus* foi utilizada a metodologia descrita na ficha técnica do meio *Baird-Parker Agar With Egg Yolk Tellurite* (Bioakar, sem data). Para se obter 1 L deste meio é feita a mistura de 58 g deste meio com 950 ml de água destilada que depois é levada à autoclave para ser esterilizada. Depois deste processo completo é adicionado 50 ml de gema de ovo e 2 frascos de sulfametazina previamente hidratada

(ambos presentes no kit do meio). Depois de todos os elementos misturados o meio é distribuído por placas de Petri que serão posteriormente inoculadas.

Foram inoculadas pelo método de espalhamento, a amostra inicial e a diluição 10^{-1} . Para cada placa de Petri contendo o meio foi colocada 0,1 ml de amostra a analisar e, de seguida, com o recurso a um espalhador esterilizado, espalhou-se o inóculo (como ilustrado na Fig. 2.4).

As placas foram incubadas à temperatura de 37 °C durante 48 horas. As colónias de *Staphylococcus aureus* são brilhantes e convexas, de cor entre o preto e o cinzento, que podem ter um halo claro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Resultados das análises a MTV a 30 °C

As amostras para os resultados iniciais foram analisadas com um indicador de contaminação geral, MTV a 30 °C e recolhidas ao longo de 2 meses (excetuando duas recolhas a 2 talhos que foram efetuadas alguns meses antes de todas as outras), em 5 categorias de estabelecimentos do setor alimentar:

- Refeitórios Escolares
- Cantinas de IPSS
- Estabelecimentos de Restauração e Bebidas
- Estabelecimentos de comércio a retalho de carne (Talhos)
- Estabelecimentos de comércio a retalho de pescado (Peixarias)

As amostras foram colhidas em pelo menos 5 estabelecimentos de cada uma das categorias anteriormente descritas, a saber: 5 cantinas de IPSS, 5 estabelecimentos de Restauração e Bebidas, 5 Peixarias, 6 Talhos e 8 Refeitórios Escolares.

3.1.1 Análise a mãos de manipuladores de alimentos

Foram examinadas 15 mãos de manipuladores de alimentos em Refeitórios Escolares (RE), 10 em cantinas de IPSS, 10 em estabelecimentos de Restauração e Bebidas (RB), 12 em Talhos e 7 em Peixarias.

Os resultados da contaminação geral das mãos, são representados pelas seguintes figuras (Fig. 3.1 a 3.5) que ilustram as unidades formadoras de colónias de MTV por mão de manipulador de alimentos (ufc/mão) em logaritmo (log.ufc/mão). Sempre que no gráfico não exista uma barra corresponde à amostra, significa que nessa amostra

nenhum microrganismo foi detetado². São representados por AH as amostras antes da higienização e DH após a higienização em cada uma das mãos analisadas. Estes resultados são comparados com o Valor Máximo Admissível para microrganismos a 30 °C estipulado pelo INSA para mãos de manipuladores de alimentos logo após o processo de lavagem/higienização, menor ou igual a 5×10^2 ufc/mão (2,7 log. ufc/mão), e para mãos de manipuladores de alimentos "com ou sem luvas no decurso do manuseamento de recipientes/utensílios que contêm alimentos prontos para consumo", menor ou igual a 10^4 ufc/mão, ou seja 4 log. ufc/mão (INSA, 2019). Estes valores estão destacados nas figuras 3.1 a 3.5 para facilitar a comparação com os mesmos.

Contagem de MTV a 30 °C em mãos de manipuladores de alimentos de RE

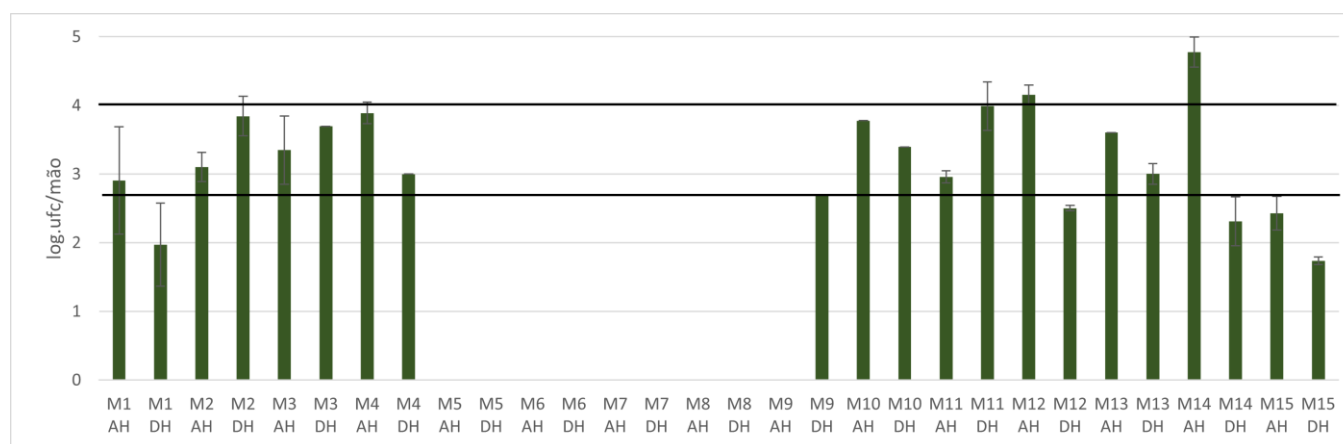


Figura 3.1 - Análise de MTV a 30 °C em 15 mãos de manipuladores de alimentos de Refeitórios Escolares, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/mão.

Os resultados das 15 mãos de manipuladores de alimentos analisadas estão apresentados na Figura 3.1. Só 2 das mãos apresentam mais de 4 log. ufc/mão antes da sua higienização, o que significa que foi ultrapassado o valor máximo admissível para mãos de manipuladores de alimentos com ou sem luvas no decurso do manuseamento de recipientes/utensílios que contêm alimentos prontos para consumo (INSA, 2019). A maioria revelou ter poucos MTV/mão, não tendo sido mesmo detetados microrganismos em 4 operadores, no entanto, 6 mãos de operadores, depois de higienizadas estavam acima do limite estipulado logo após a lavagem. As amostras 3 a 10, foram apenas inoculadas com as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} , sendo que, as amostras 5 a 8

² O número de microrganismos possivelmente presentes está abaixo do limite de deteção. Ou seja, foi menor do que 0 ufc/100cm² para utensílios e superfícies ou 0 ufc/mão para mãos de manipuladores de alimentos.

e 9AH não apresentaram nenhum microrganismo, isto não significa que estas mãos não tenham microrganismos, mas sim que a sua carga microbiana não foi o suficiente para ser detetada na diluição 10^{-2} da amostra inicial. Algumas das mãos, sujeitas a análise, apresentaram mais microrganismos depois da sua higienização. Para este resultado, pode ter contribuído a utilização de outro material de secagem de mãos que não o papel descartável ou o processo de higienização das mãos não ter sido o mais adequado.

Contagem de MTV a 30 °C em mãos de manipuladores de alimentos de cantinas de IPSS

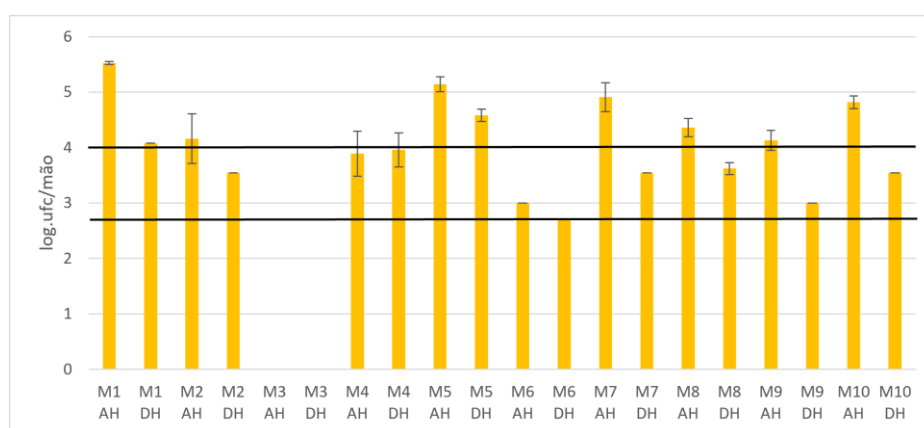


Figura 3.2 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos de cantinas de IPSS, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/mão.

Nas cantinas de IPSS, 6 das 10 mãos analisadas apresentaram mais de 4 log. ufc/mão antes da sua higienização e apenas 2 mãos apresentam em valor igual ou inferior a 2,7 log. ufc/mão após a higienização (valor máximo admissível para as mãos logo após lavagem/higienização - INSA, 2019). Em todos os casos, consegue-se observar que a higienização teve algum efeito, pois houve uma diminuição generalizada de microrganismos. No entanto, só 2 amostras depois de higienizadas se encontravam no estado aceitável para microrganismos a 30 °C, o que sugere que a higienização pode não ter sido feita de modo correto, por exemplo, não ter sido utilizado o tempo devido para uma higienização eficiente. Apesar de apenas na amostra 3 não ter sido detetado nenhum microrganismo todas as amostras foram inoculadas com a mesma diluição, de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} da solução inicial da zaragatoa.

Contagem de MTV a 30 °C em mãos de manipuladores de alimentos em estabelecimentos de Restauração e Bebidas

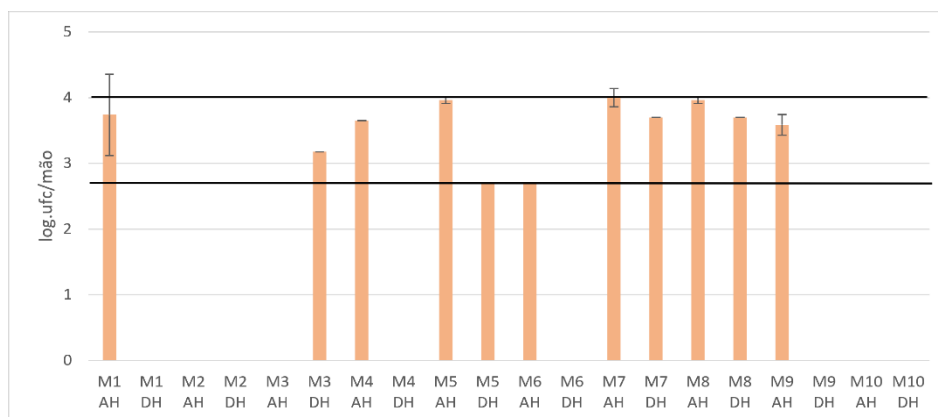


Figura 3.3 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de Restauração e Bebidas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

Em estabelecimentos de RB, assim como em cantinas de IPSS é notável a eficácia da higienização das mãos. No entanto, contrariamente aos resultados em RE e cantinas de IPSS, os valores de MTV encontrados nas mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de RB não ultrapassou 4 log.ufc/mão em nenhum dos 10 casos observados antes da higienização. No entanto, 3 apresentaram valores superiores ao máximo admissível depois da higienização (amostras 3, 7 e 9), apesar da amostra 5 estar próximo do limite, não o ultrapassou.

Contagem de MTV a 30 °C em mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de carne

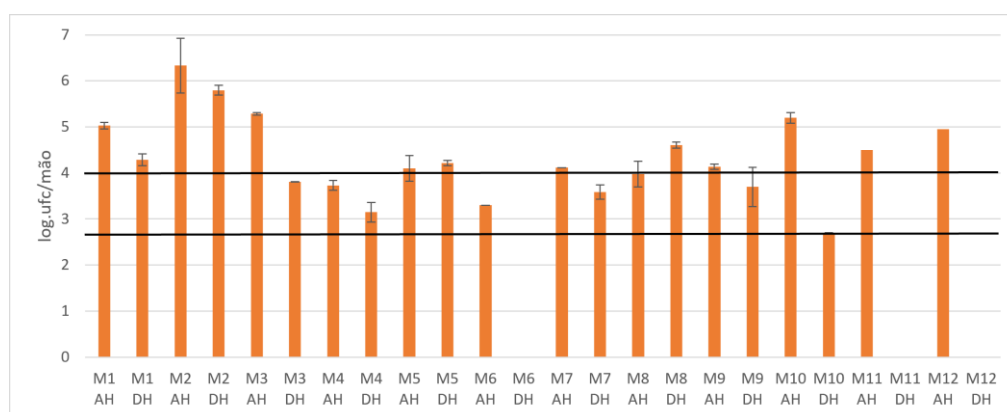


Figura 3.4 - Análise de MTV a 30 °C em 12 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

Nos resultados para os 6 estabelecimentos de comércio a retalho analisados, houve diferenças muito significativas entre manipuladores de alimentos. Apenas 3 das 12 mãos

(amostras 4, 6 e 8) em estudo antes da higienização continham menos MTV do que o valor máximo admissível e apenas 4 não ultrapassaram o limite máximo admissível para mãos higienizadas. Na maioria dos casos a higienização foi eficaz, no entanto nalguns casos obtiveram-se mais microrganismos no fim da higienização do que antes. Uma possível razão para este resultado é o processo de higienização e/ou o sabonete/desinfetante não serem os mais adequados e a torneira ser de acionamento manual, o que faria com que a mão fosse novamente contaminada depois de higienizada.

Contagem de MTV a 30 °C em mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado

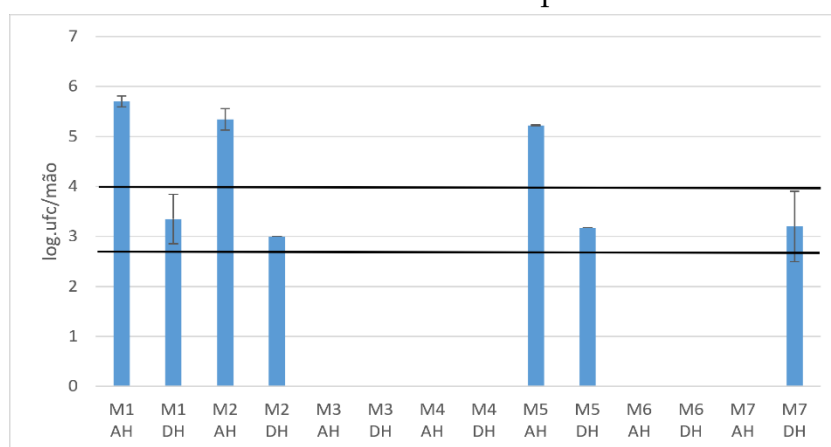


Figura 3.5 - Análise de MTV a 30 °C em 7 mãos de manipuladores de alimentos de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/mão.

Nos resultados para os 5 estabelecimento de comércio a retalho de pescado analisados, são claras as diferenças entre as mãos dos 7 manipuladores de alimentos observados. Neste caso, 3 das 7 mãos estudadas continham mais MTV do que o valor máximo admissível antes da sua higienização e 4 ultrapassaram mesmo o limite máximo admissível para mãos após a higienização. Nalgumas amostras o valor de ufc/mão foi nulo, o que não significa que a mão estivesse isenta de microrganismos. Todas as amostras foram inoculadas com as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} a partir da solução inicial e desta forma, algumas delas não tinham uma carga microbiana suficientemente elevada para ser detetada na diluição 10^{-2} . Salienta-se que na última amostra foram detetados $3,2 \pm 0,7$ log. ufc/mão após higienização e, antes desta, não foram detetados quaisquer microrganismos. Para estes resultados podem contribuir as razões já referidas anteriormente, mas também o facto de na maioria das peixarias não possuir água quente,

fator essencial para a correta higienização das mãos e que contribui para o decréscimo do número de microrganismos.

De um modo geral os estabelecimentos de RB foram os que tiveram menos MTV a 30 °C por mão e os estabelecimentos de venda a retalho de carne foram os que apresentaram maior percentagem de mãos que excederam o valor máximo admissível para antes e após a higienização. Estes últimos apresentaram ter apenas 25% das mãos antes de higienizadas consideradas aceitáveis.

A obtenção destes resultados pode prender-se com o facto de nos estabelecimentos de RB, os manipuladores de alimentos manuseiam matérias-primas que vão ser posteriormente confeccionadas (com eventual diminuição da carga microbiana) o que não acontece em talhos, onde a maioria do que é comercializado é matéria-prima crua, que por norma, tem associada uma maior carga microbiana do que um alimento pronto a consumir.

Além deste fator e apesar de ser dada formação, o que se verifica é que a prática comum durante as atividades de manipulação nos estabelecimentos de venda a retalho de carne é que os colaboradores não realizam adequadamente o procedimento de higienização das mãos, mesmo possuindo os meios para tal, o que, pode contribuir muito para os resultados obtidos. Esta prática foi também relatada em outros estudos, que referem que nem sempre o conhecimento sobre a higienização das mãos se reflete no comportamento dos manipuladores de alimentos (Clayton *et al.*, 2002, Ehiri *et al.*, 1997 e Rennie, 1994, citados por Soon e Baines, 2012). Por exemplo, um estudo de Byrd-Bredbenner *et al.* (2007) relatou que, embora 97% dos participantes (manipuladores de alimentos) tenham avaliado o seu conhecimento de segurança alimentar como pelo menos razoável; 60% não lavaram as mãos com água e sabão depois de tocar em aves cruas. Segundo Griffith (2000), a mudança comportamental (ou seja, a implementação de práticas de higiene) não é facilmente alcançada e essa consideração deve-se a falta de motivação ou constrangimentos, barreiras, bem como aos aspetos culturais.

3.1.2 Análise a utensílios dos diferentes estabelecimentos

As amostras recolhidas para as análises a utensílios foram, na sua maioria, em facas, uma vez que são dos utensílios mais usados e estarem presentes em todas as categorias dos estabelecimentos em estudo. Visto nem todos os utensílios terem a mesma área foi feita uma normalização prévia para o número de ufc por 1 cm² e depois

apresentado nas Figuras 3.6 a 3.10 em log.ufc/100 cm². Desta forma pode ser feita uma comparação direta com o valor máximo admissível de microrganismos a 30 °C, menor ou igual 2 log.ufc/100cm² para superfícies que contactam com os alimentos prontos para consumo ou com as matérias-primas, prontos a utilizar, expostos ou armazenados (INSA, 2019). Este valor está destacado nas figuras seguintes para uma análise mais fácil.

Contagem de MTV a 30 °C em utensílios de Refeitórios Escolares

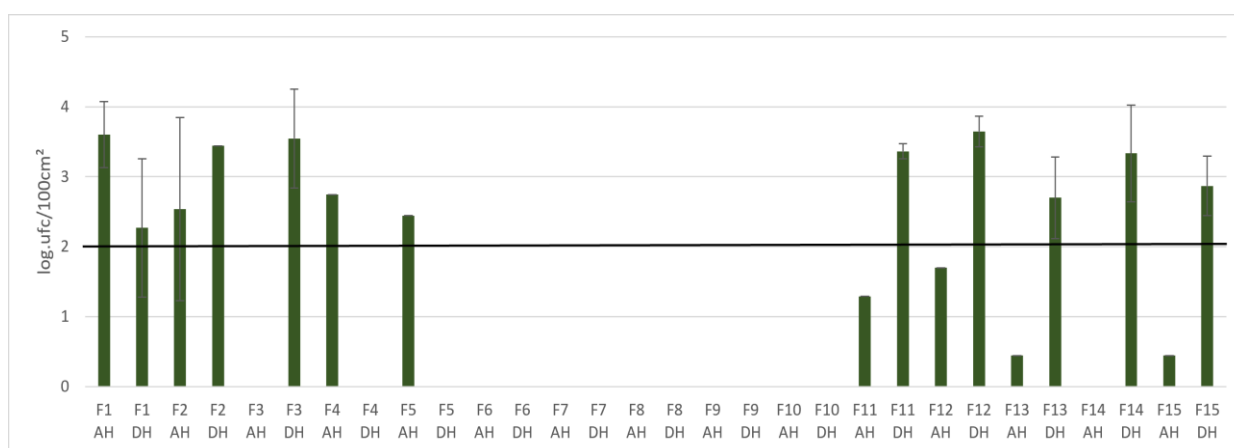


Figura 3.6 - Análise de MTV a 30 °C em 15 facas (F) utilizadas em Refeitórios Escolares, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Em 5 facas analisadas (um terço das facas), antes e depois da sua higienização, não foi detetado qualquer microrganismo nas diluições inoculadas (10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) a partir da solução da zaragatoa inicial. Das restantes 10 facas, 3 apresentaram uma higienização eficiente, em que o número de MTV baixou consideravelmente, ficando dentro dos valores admissíveis, enquanto as outras 7 apresentaram mais ufc/100cm² depois da sua higienização. Para estes resultados muito pode ter contribuído o esfregão utilizado na lavagem dos utensílios, o qual poderia encontrar-se em deficiente estado de conservação e de higiene ou por ter sido utilizado para a secagem um outro material que não o papel descartável, o que provocaria que mais microrganismos fossem acrescentados ao utensílio durante a sua lavagem e secagem, respetivamente.

Contagem de MTV a 30 °C em utensílios de cantinas de IPSS

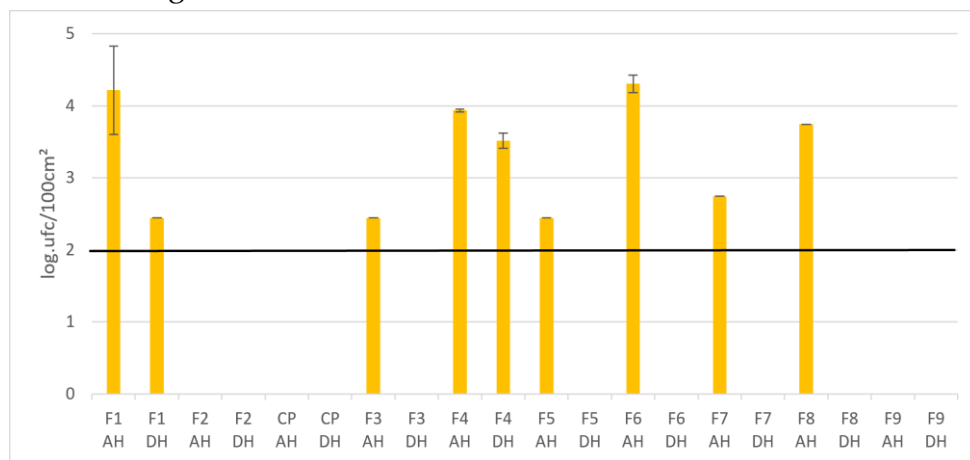


Figura 3.7 - Análise de MTV a 30 °C em 9 facas (F) e uma colher de pau (CP) utilizadas em cantinas de IPSS, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Nas cantinas de IPSS, foram recolhidas amostras de 9 facas e uma colher de pau das quais foram inoculadas as diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} da solução mãe. Alguns utensílios (a colher de pau e 2 facas) não mostraram ter microrganismos quer antes quer depois da higienização. Nas restantes 7, foi possível verificar uma higienização eficiente em que apenas 2 apresentaram mais MTV do que o limite máximo aceitável para utensílios.

Contagem de MTV a 30 °C em utensílios de estabelecimentos de Restauração e Bebidas

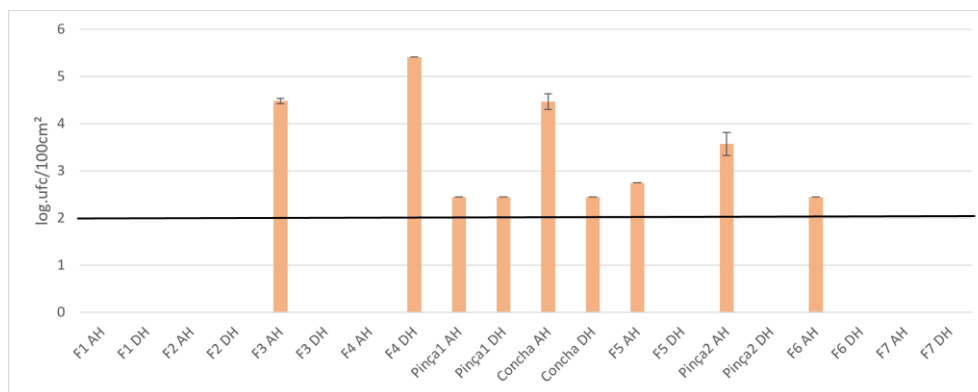


Figura 3.8 - Análise de MTV a 30 °C em 7 facas (F), 2 pinças e uma concha utilizadas em estabelecimentos de RB, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Em estabelecimentos de RB, das 7 facas analisadas, 3 não demonstraram ter microrganismos, independentemente da higienização, nas diluições inoculadas. Outras 3 facas, assim como uma das pinças, demonstraram uma higienização eficaz, onde também não foram detetados microrganismos depois da higienização. A concha analisada teve uma diminuição nos MTV, mas não o suficiente para ficar dentro do

limite máximo aceitável. Uma faca ficou com muito mais microrganismos depois da higienização do que antes e uma das pinças ficou com o mesmo número de ufc/100cm². Existem alguns fatores que podem ter contribuído para a obtenção destes resultados, designadamente a utilização de tecidos ou panos húmidos para o processo de secagem em vez de papel descartável.

Contagem de MTV a 30 °C em utensílios de estabelecimentos de comércio a retalho de carne

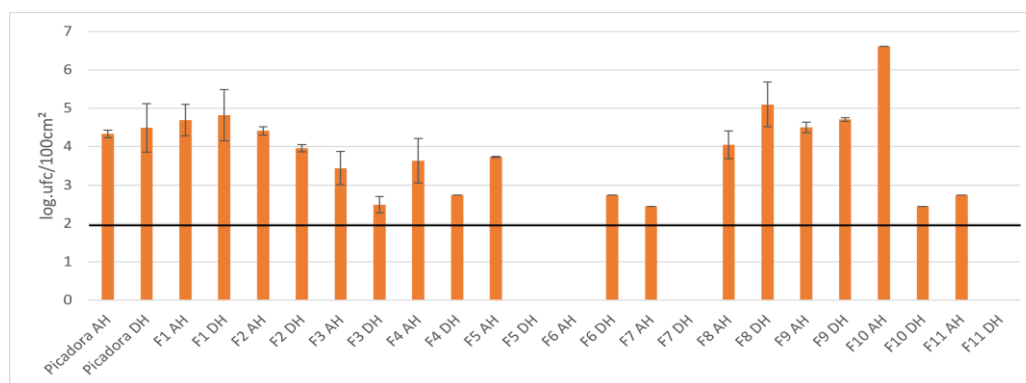


Figura 3.9 - Análise de MTV a 30 °C em 11 facas (F) e uma picadora utilizadas em estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Em estabelecimentos de comércio a retalho de carne foram analisadas zaragatoas de 11 facas e uma picadora em que apenas 3 destas facas mostraram estar dentro do limite máximo aceitável depois da sua higienização. Na vasta maioria das amostras, foram verificados números bastante mais elevados do que o limite máximo aceitável, para microrganismos a 30 °C (2 log.ufc/100cm²) independentemente da higienização.

Contagem de MTV a 30 °C em utensílios de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado

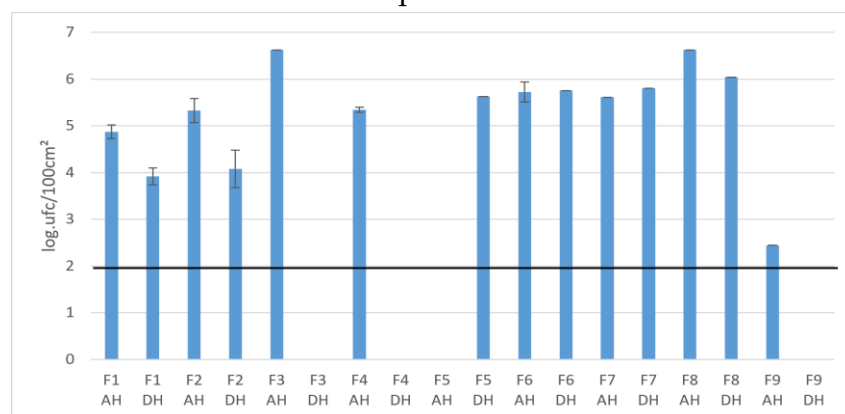


Figura 3.10 - Análise de MTV a 30 °C em 9 facas (F) utilizadas em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Nas 9 facas analisadas em estabelecimentos de comércio a retalho de peixe, 3 não apresentaram microrganismos depois de higienizadas, sendo as únicas amostras higienizadas que se mantiveram dentro do limite máximo admissível anteriormente referido. Para além destas 3, outras 3 também demonstraram ter um número inferior de ufc/100cm² depois de higienizadas. No entanto, o outro terço apresentou ter uma higienização ineficaz, uma vez que foram detetados mais MTV nos utensílios depois da sua higienização do que antes desta.

De um modo geral os estabelecimentos de RB, os RE, e cantinas de IPSS foram os que tiveram menos MTV a 30 °C para os utensílios analisados. A percentagem de utensílios considerados aceitáveis antes da higienização, segundo este parâmetro, foi de 73% para RE, de 40% para estabelecimentos de RB e de 30% para cantinas de IPSS. As percentagens para os mesmos utensílios depois de higienizados foram de 47% para RE, 70% para estabelecimentos de RB e de 80% para cantinas de IPSS.

Os estabelecimentos de venda a retalho de carne e pescado foram os que apresentaram maior percentagem de utensílios que excederam o valor máximo admissível para antes e após a higienização. Para utensílios antes da higienização apenas 8% se encontravam a níveis aceitáveis de higiene em estabelecimento de comércio a retalho de carne e no comércio a retalho de pescado, 11%; depois da higienização a percentagem aumentou para 25% e 33%, respetivamente.

Destaca-se o caso dos RE, por ser o único em que a higienização tornou mais utensílios em condições insatisfatórias de higiene. Uma razão para este resultado pode ter sido o uso de esponjas ou esfregões em mau estado de conservação, se este for o caso, o seu uso poderá contaminar os utensílios, aquando da higienização, e aumentar assim a sua carga microbiana. Outra origem de contaminação após a higienização pode ser a secagem com materiais que não o papel descartável. As esponjas e toalhas, devido ao seu uso comum, permitem a dispersão de microrganismos sobre, neste caso, os utensílios. Com o desgastar destes utensílios, ocorre também o aparecimento de fissuras que dificultam uma higienização eficiente (Marais e Conraddie, 2007).

3.1.3 Análise a superfícies dos diferentes estabelecimentos

Foram analisadas, no total, 66 superfícies dos diferentes tipos de estabelecimentos, das quais, 44 foram recolhidas por placas de contacto e as restantes por zaragatoa. Os resultados obtidos destas análises foram normalizados para log. ufc/100cm², para uma

comparação mais fácil com os valores máximos admissíveis da literatura, representados nas Tabelas 3.1 a 3.5.

Segundo os Valores-guia do INSA (2019), o valor máximo admissível para superfícies que contactam com o recipiente que contém alimentos prontos para consumo (ex. bancadas, carros de transporte, tabuleiros, vitrinas de exposição...) para microrganismos a 30 °C no decurso da laboração é 4 log.ufc/100cm² (10⁴ ufc/100cm²) e para as mesmas superfícies logo após o processo de lavagem/higienização é de 2 log.ufc/100cm² (10² ufc/100cm²).

Pelo facto da maioria das amostras terem sido recolhidas por placas de contacto (sem possibilidade de a amostra ser diluída) existem muitas delas cujo resultado foi incontável (inc.). A título experimental foram feitas 4 análises (apenas em RE) a superfícies, que, depois de higienizadas, foram submetidas a uma desinfeção com lixívia para analisar a diferença entre a desinfeção habitual e a desinfeção com lixívia.

Tabela 3.1 - Contagem de MTV a 30 °C em 24 superfícies de Refeitórios Escolares, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm²

Amostra	Higienização	Tabuleiro	Bancada de inox	Alguidar	Prato
1	Antes	inc.	inc.	2,5 ± 0,3	1,4 ± 0,1
	Após	inc.	1,8 ± 0,2	0	1,2 ± 0,1
	Com Lixívia	0,9 ± 0	0		0,9 ± 0
2	Antes	2 ± 0,2	inc.		inc.
	Após	0	1,6 ± 0,2		0
	Com Lixívia	0,6 ± 0			
3	Antes	inc.	inc.		1,6 ± 0,2
	Após	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,2		0,6 ± 0
4	Antes	1,3 ± 0,1	inc.		0
	Após	2,1 ± 0,2	inc.		0
5	Antes	2,6 ± 0,3	3,1 ± 0,3		1,7 ± 0,2
	Após	1,7 ± 0,2	0,6 ± 0		0
6	Antes	1,6 ± 0,2	2,5 ± 0,2		0
	Após	inc.	0		1,8 ± 0,2
7	Antes	2 ± 0,2	inc.		
	Após	0	inc.		
8	Antes		inc.		
	Após		inc.		
9	Antes		3,4 ± 0,8		
	Após		2,3 ± 0		
10	Antes		5,1 ± 0		
	Após		3,1 ± 0,2		

Das 24 superfícies analisadas, 22 foram recolhidas por placas de contacto e apenas 2 (Bancada de inox 9 e 10) por zaragatoa e inoculadas as diluições 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . De todas as superfícies analisadas, 4 não tiveram valores passíveis de contabilização (inc.) quer antes quer após a sua higienização, e uma destas, depois de higienizada com os produtos em uso por esse RE, foi submetida a uma higienização com lixívia, apresentando apenas 0,9 log.ufc/100cm². Para além destas, 5 amostras também não foram passíveis de contabilização antes da higienização, apresentando a indicação "inc." na Tabela 3.1.

Antes da higienização apenas 2 amostras tinham mais microrganismos do que o valor máximo admissível. Na vasta maioria dos casos há uma diminuição significativa de MTV a 30 °C depois da higienização. No entanto, 4 amostras depois de higienizadas tiveram mais microrganismos do que o valor máximo admissível. Desta forma pode-se concluir que, na maioria dos casos, os procedimentos de higienização das superfícies foram feitos de forma correta com recurso a um bom detergente/desinfetante e a papel descartável.

Tabela 3.2 - Contagem de MTV a 30 °C em 14 superfícies de cantinas de IPSS, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm²

Amostra	Higienização	Bancada de inox	Tábua de corte	Bancada de mármore	Prato
1	Antes	inc.	inc.	2,0 ± 0,2	0
	Após	2,4 ± 0,2	2,5 ± 0,3	0,6 ± 0,1	0
2	Antes	inc.		4,4 ± 0,4	
	Após	inc.		3,7 ± 0,4	
3	Antes	inc.			
	Após	1,2 ± 0,1			
4	Antes	1,2 ± 0,1			
	Após	1,2 ± 0,1			
5	Antes	inc.			
	Após	inc.			
6	Antes	inc.			
	Após	0			
7	Antes	4,6 ± 0,5			
	Após	4,3 ± 0,4			
8	Antes	0			
	Após	3,7 ± 0,4			
9	Antes	0			
	Após	0			
10	Antes	4,2 ± 0,4			
	Após	0			

Das 5 IPSS visitadas foram recolhidas 14 amostras de superfícies, 6 destas colhidas pelo método de zaragatoa e inoculadas a 30 °C nas diluições 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴. Das superfícies analisadas, 2 não tiveram valores passíveis de contabilização (inc.) quer antes quer após a sua higienização. Apenas 5 amostras antes da higienização estão abaixo do valor máximo admissível, destas, apenas 4 continuaram dentro do limite admissível depois de higienizadas para superfícies logo após o processo de lavagem/higienização.

Tabela 3.3 - Contagem de MTV a 30 °C em 10 superfícies de estabelecimentos de Restauração e Bebidas, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm²

Amostra	Higienização	Bancada de inox
1	Antes	3,7 ± 0,4
	Após	0
2	Antes	0
	Após	0
3	Antes	0
	Após	0
4	Antes	0
	Após	0
5	Antes	4,3 ± 0,4
	Após	4,7 ± 0,5
6	Antes	0
	Após	5,1 ± 0,5
7	Antes	0
	Após	0
8	Antes	0
	Após	0
9	Antes	3,7 ± 0,4
	Após	0
10	Antes	0
	Após	4,3 ± 0,4

Todas as 10 superfícies analisadas em estabelecimentos de RB foram recolhidas por zaragatoa em bancadas de inox e inoculadas segundo as diluições 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴ da solução inicial. Metade destas, não apresentaram qualquer microrganismo quer antes ou depois do processo de higienização. Apenas 1 das amostras ultrapassou o limite máximo admissível para superfícies no decurso da laboração e 3 ultrapassaram o limite para superfícies logo após o processo de lavagem/higienização. Relativamente a estes resultados, pode verificar-se que o processo de higienização não foi eficiente, salientando-se que em duas amostras obtiveram-se mais microrganismos depois da higienização, podendo para isso contribuir a utilização, durante esse procedimento, de

um pano de tecido húmido, ou de um esfregão em más condições de higiene e conservação.

Tabela 3.4 - Contagem de MTV a 30 °C em 16 superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de carne, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm²

Amostra	Higienização	Serra	Fiambreira	Bancada de madeira	Bancada de inox	Tábua de corte	Picadora
1	Antes	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.
	Após	inc.	inc.	inc.	inc.	inc.	2,7 ± 0,3
2	Antes	4,2 ± 0,4			inc.	inc.	inc.
	Após	4,3 ± 0,4			inc.	inc.	0
3	Antes	inc.				inc.	
	Após				inc.	inc.	
4	Antes	4,2 ± 0,4				inc.	
	Após				0	inc.	
5	Antes	0				4,7 ± 0,5	
	Após				0	0	

Das 16 superfícies analisadas em estabelecimentos de comércio a retalho de carne, apenas 4 foram recolhidas por zaragatoa e posteriormente inoculadas segundo as diluições 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴ da solução inicial. Devido à elevada carga microbiana, não foi possível contar o número de ufc nas placas de 10 amostras quer antes, quer depois da higienização da superfície. Das 16 amostras recolhidas, apenas 1, antes da higienização, se manteve dentro do limite máximo admissível para superfícies no decorrer da laboração, e apenas 4 cumpriram o limite dos valores-guia para superfícies logo após o processo de lavagem/higienização.

Tabela 3.5 - Contagem de MTV a 30 °C em 2 superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, antes e após a sua higienização em log.ufc/100cm²

Amostra	Higienização	Tábua de corte	Tabuleiro da balança
1	Antes	inc.	inc.
	Após	inc.	inc.

Em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado só foi possível recolher amostras para análise em 2 superfícies. A amostra foi recolhida por placas de contacto e em ambos os casos, a carga microbiana foi tão elevada que, antes e após a higienização não foi possível contar os microrganismos presentes.

Os resultados até agora apresentados das 5 categorias de estabelecimentos revelaram que os estabelecimentos com mais microrganismos a 30 °C são, no geral, os estabelecimentos de comércio a retalho de carne e de pescado. Assim, foram recolhidas novas amostras apenas nestas 2 categorias de estabelecimentos, os resultados para as amostras recolhidas em estabelecimentos de comércio a retalho de carne são apresentados e discutidos no subtítulo 3.2 e os resultados das amostras recolhidas em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado no subtítulo 3.3.

3.2 Resultados das análises a estabelecimentos de comércio a retalho de carne

As amostras para análise a microrganismos específicos, a estabelecimentos de comércio a retalho de carne, foram recolhidas por método de zaragatoa, durante o período de 1 mês. Foram efetuadas colheitas em 10 mãos, 10 facas e 10 superfícies, antes e após a higienização, as quais foram analisadas, por contagem de: microrganismos a 30 °C, microrganismos psicrotróficos, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus sp.* e *S. aureus*. Foram também contabilizados fungos, mas apenas nas amostras recolhidas em facas e superfícies. Nas figuras e tabelas que se seguem as amostras são denominadas de 1 até 10 (AH e DH) nas diferentes análises e referem-se à mesma amostra, ou seja, a amostra M1 AH para microrganismos a 30 °C é a mesma amostra M1 AH para as restantes determinações.

3.2.1 Resultados das análises a MTV a 30 °C

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies a microrganismos a 30 °C são apresentados nas Fig. 3.11 a 3.13. Foram comparados com os valores-guia, já acima referidos, para superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar (INSA, 2019).

Contagem de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos

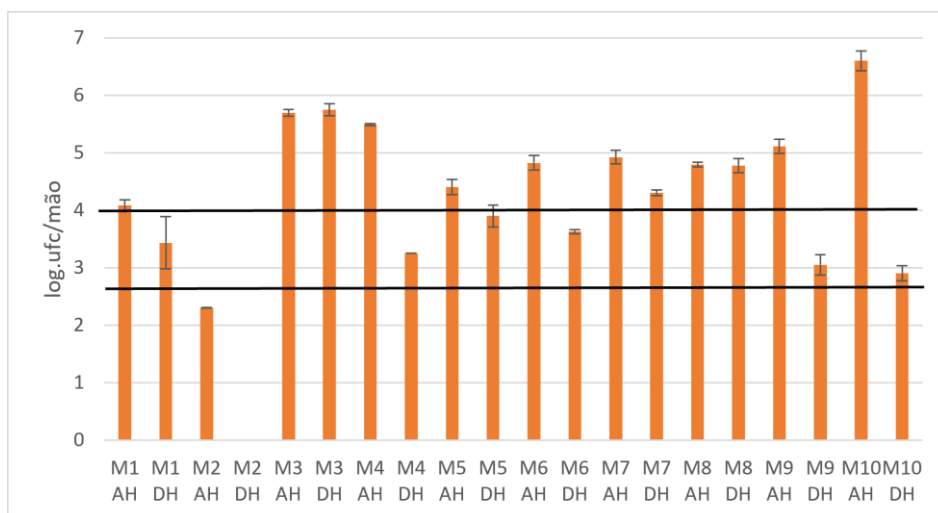


Figura 3.11 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

Perante as 10 mãos de manipuladores de alimentos analisadas, apenas a amostra 2 se encontrava dentro dos valores máximos admissíveis, quer após o processo de higienização (2,7 log.ufc/mão), quer no decorrer do manuseamento de recipientes/utensílios que contêm alimentos prontos para consumo (4 log.ufc/mão).

O que significa que 90% das amostras analisadas ultrapassaram o limite estipulado para microrganismos a 30 °C em mãos de manipuladores, independentemente da higienização. Em 9 casos a higienização trouxe uma diminuição de microrganismos, mas não o suficiente para estar dentro dos padrões de higiene (excetuando a anteriormente referida), o que sugere que o processo de higienização não foi efetuado de forma correta, talvez por não terem sido realizados todos os passos da higienização, ou por não ser utilizado o sabonete/desinfetante mais adequado.

Contagem de MTV a 30 °C em 10 facas

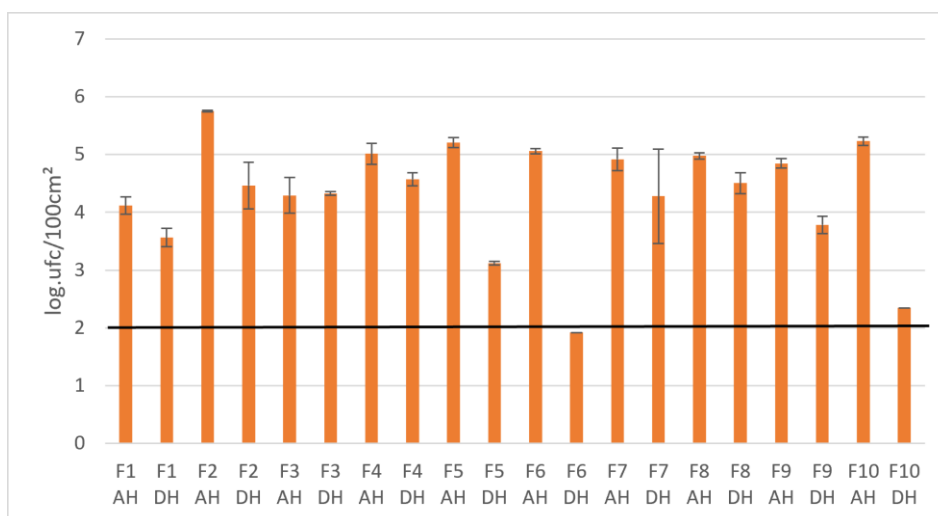


Figura 3.12 - Análise de MTV a 30 °C em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Para utensílios o valor máximo admissível de microrganismos a 30 °C é igual para antes e após a higienização. Para utensílios que contactam com alimentos prontos para consumo ou com as matérias-primas, os valores-guia do INSA (2019) estipulam que o valor deve ser inferior ou igual a 2 log.ufc/100cm². Apenas a faca 6 depois de higienizada está dentro do limite admissível de MTV a 30 °C para utensílios. A faca 3 não apresentou diferenças antes e depois da higienização, pelo que, pode concluir-se que a higienização não foi efetuada de modo correto, talvez por não ser usado o químico de limpeza adequado, ou por o esfregão utilizado estar em deficiente estado de conservação e higiene, ou ainda por não ter sido usado o material de secagem apropriado. Uma outra razão que pode ter contribuído para este resultado, é a possibilidade de o cabo da faca estar danificado, o que poderia facilitar a proliferação microbológica, e com a passagem da água trazer mais microrganismos para a lâmina do que aqueles já estavam presentes. Nas restantes 9 amostras, o número de ufc/100cm² diminuiu após a higienização, no entanto, destas 9, apenas uma ficou dentro do limite máximo admissível. Conclui-se assim que a higienização não terá sido efetuada de modo correto, talvez por não estar disponível água quente ou detergente/desinfetante adequados.

Contagem de MTV a 30 °C em 10 superfícies

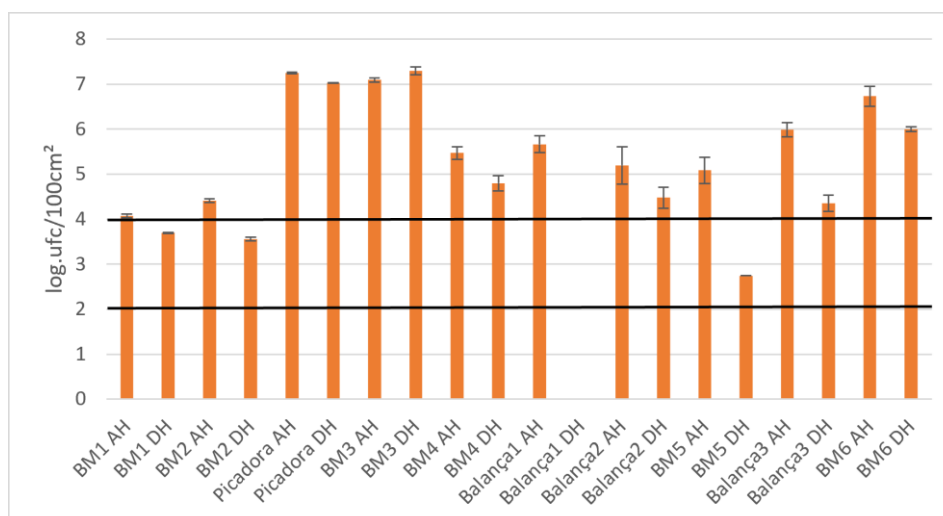


Figura 3.13 - Análise de MTV a 30 °C em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Foram recolhidas amostras em 6 bancadas metálicas, 1 picadora e 3 balanças. Todas as superfícies antes do processo de higienização apresentam mais microrganismos a 30 °C do que o valor máximo admissível para superfícies no decurso da laboração (4 log.ufc/100cm²), ao mesmo tempo, também apresentaram uma diminuição de microrganismos após a higienização. Apenas 1 amostra, a balança 1, depois de higienizada ficou dentro do valor máximo admissível para microrganismos a 30 °C.

Os resultados sugerem que a higienização, apesar de diminuir o número de MTV a 30 °C, não é suficientemente eficaz na sua diminuição para níveis aceitáveis. Uma das razões para tal pode ser a carga microbiana que a superfície apresentava antes da sua higienização, o que pode ser indicador da incorreta e irregular higienização da superfície. Outro fator a considerar é a utilização de material inadequado durante a higienização ou o uso de desinfetante não adequado.

3.2.2 Resultados das análises a microrganismos psicrotróficos

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies a microrganismos psicrotróficos são apresentados nas Fig. 3.14 a 3.16. Uma vez que não existem valores estipulados para microrganismos psicrotróficos, estes serão comparados com os resultados das mesmas amostras para microrganismos a 30 °C.

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos

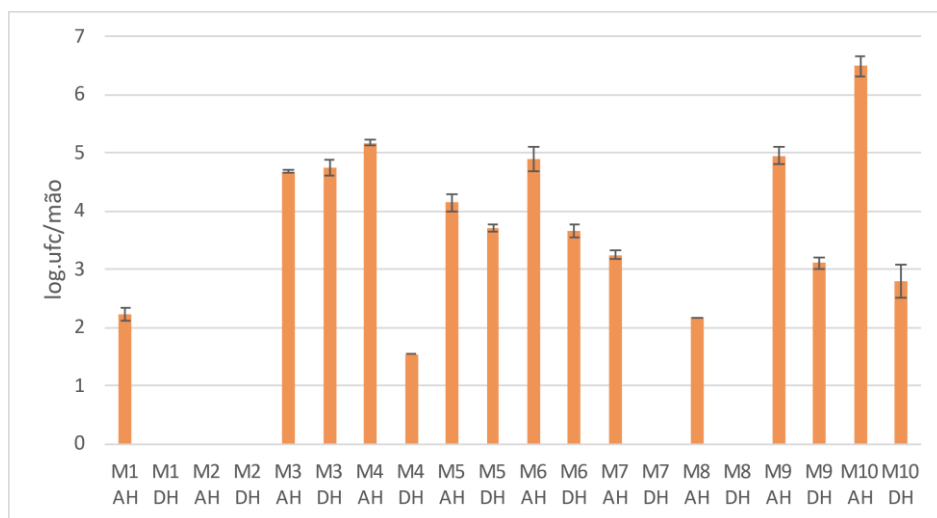


Figura 3.14 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

É possível verificar na Fig. 3.14 que, em todas as 10 higienizações efetuadas, houve uma diminuição de microrganismos detectados a 4 °C. Comparando com os resultados de microrganismos a 30 °C (Fig. 3.11), quase todas as amostras demonstram ter menos microrganismos a crescer a 4 °C. Apenas a amostra referente à mão 6, depois de higienizada e a amostra referente à mão 9 antes da higienização, mostram ter mais microrganismos psicrotróficos do que a crescer a 30 °C.

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 facas

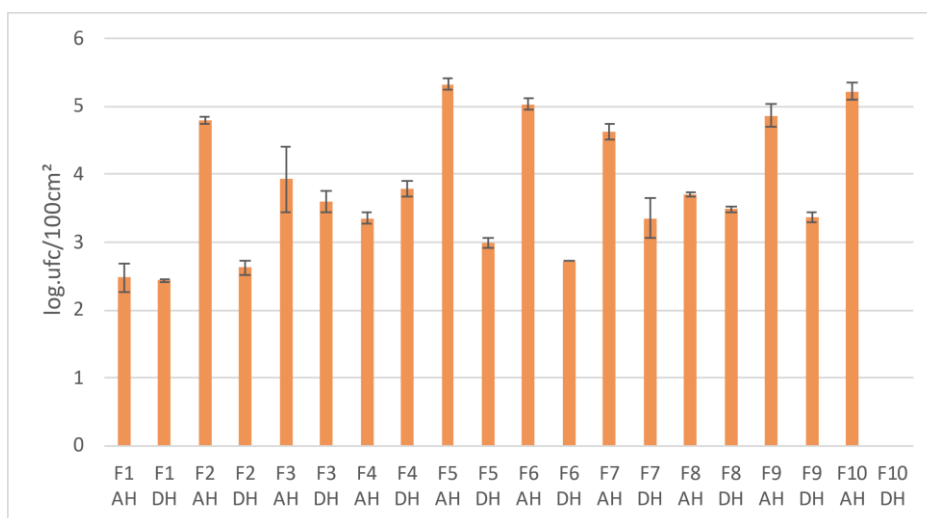


Figura 3.15 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

A higienização nem sempre correspondeu a uma diminuição de microrganismos nas 10 facas analisadas (Fig. 3.15). A amostra 4 apresentou mais microrganismos psicrotróficos após a sua higienização, o que não aconteceu para microrganismos a 30 °C (Fig. 3.12), pois apenas a amostra 3 teve mais microrganismos a 30 °C após a higienização. Apesar da faca 4 conter menos microrganismos capazes de crescer a 30 °C depois de higienizada, isso não significou que obrigatoriamente tivesse menos microrganismos capazes de crescer a 4 °C (psicrotróficos). Isto porque, alguns microrganismos capazes de crescer a 4 °C também são capazes de crescer a temperaturas mais elevadas, mas nem todos. Em quase todas as amostras é notável uma diminuição de microrganismos a crescer a 4 °C do que em 30 °C. Apenas a amostra 6 antes da higienização e as amostras 5 e 10 depois de higienizadas mostraram ter mais MTV a crescer a 4 °C do que a crescer a 30 °C.

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 superfícies

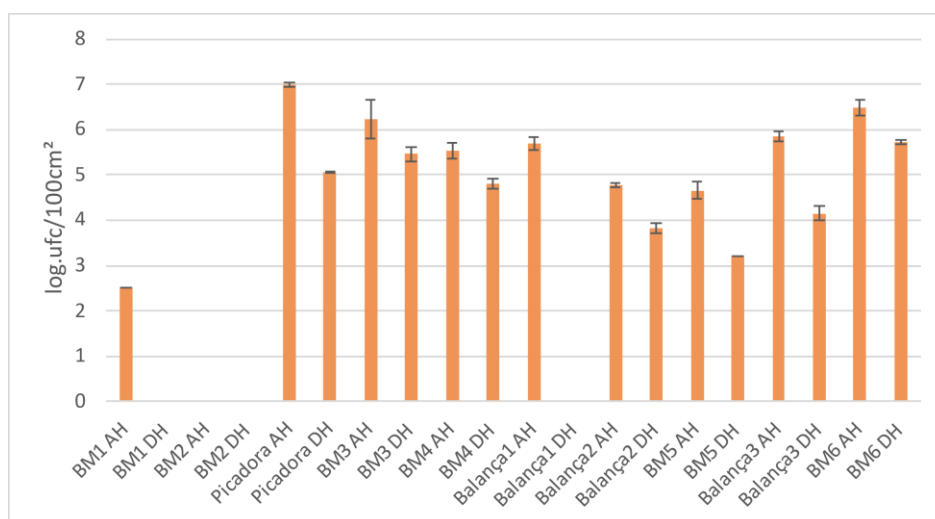


Figura 3.16 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Os resultados para microrganismos psicrotróficos encontrados em superfícies estão representados na Fig. 3.16. Das 6 bancadas metálicas analisadas, uma delas (BM2) não apresentou quaisquer microrganismos psicrotróficos, quer antes, quer após a higienização. Nas restantes amostras, todas apresentaram uma diminuição da carga microbiana para estes microrganismos por consequência da higienização. A grande maioria das amostras demonstraram ter menos microrganismos psicrotróficos do que mesófilos (MTV a 30 °C, cujos resultados estão representados na Fig. 3.13), sendo que as

exceções foram as 3 amostras seguintes: BM4 DH, BM5 DH e Balança3 AH, onde a diferença entre estes microrganismos não foi significativa.

No geral, os resultados obtidos para microrganismos psicrotróficos nos estabelecimentos de comércio a retalho de carne indicam que existem muito menos destes microrganismos do que microrganismos a 30 °C. Este resultado está de acordo com as condições do estabelecimento, que não tinha temperaturas tão baixas que favorecesse o crescimento destes microrganismos, que têm uma temperatura ideal de crescimento a temperaturas de refrigeração, entre os 0 e os 7 °C.

3.2.3 Resultados das análises a Fungos

As análises a fungos foram realizadas em facas e superfícies e comparadas com os padrões da *American Public Health Association* (APHA, 1992). Estes consideram uma superfície em condições satisfatórias de higiene, aquela que apresenta até 20 ufc/10cm² de fungos, independentemente da higienização. Os resultados das análises estão apresentados nas Tabelas 3.6 e 3.7.

Tabela 3.6 - Contagem de fungos em 10 facas antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	Faca1	Faca2	Faca3	Faca4	Faca5	Faca6	Faca7	Faca8	Faca9	Faca10
AH	6 ± 0	3 ± 0	7 ± 0	410 ± 187	0	1 ± 0	1 ± 0	6 ± 0	51 ± 14	22 ± 12
DH	1 ± 0	0	14 ± 0	24 ± 15	6 ± 0	0	0	0	10 ± 6	0

No geral, as facas analisadas estão em boas condições de higiene no que se refere a fungos (incluindo fungos filamentosos e leveduras). Apenas 3 das 10 facas têm mais ufc de fungos por cm² do que o limite estabelecido pela APHA (1992) antes de higienizadas e apenas 1 (a que apresentou mais fungos antes de higienizada) se manteve acima do limite, após a sua higienização. Assim, após a higienização das 10 facas, 90% tinham uma condição de higiene satisfatória referente a esta determinação.

Tabela 3.7 - Contagem de fungos em 6 Bancadas metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças (B) antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	BM1	BM2	Picadora	BM3	BM4	B1	B2	BM5	B3	BM6
AH	0	0	3861 ± 1502	1250 ± 982	28 ± 0	56 ± 0	0	0	0	2185 ± 516
DH	0	0	12083 ± 1375	23704 ± 7057	0	0	0	0	0	389 ± 157

Metade das superfícies analisadas não apresentou qualquer fungo filamentoso ou levedura quer antes, quer após a sua higienização. A outra metade, no entanto, antes da higienização apresentou estar sempre acima do limite estipulado pela APHA para fungos em superfícies. Mesmo após a sua higienização, apenas 2 se encontravam dentro do limite para a superfície se encontrar em condições de higiene satisfatórias.

3.2.4 Resultados das análises a *Enterobacteriaceae*

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies para a família das *Enterobacteriaceae* são apresentados nas Fig. 3.17 a 3.19 (em escala logarítmica) e serão comparados com os valores-guia publicados pelo INSA (2019).

Para mãos de manipuladores de alimentos, os valores-guia são: menor que 5 ufc/mão (0,7 log. ufc/mão) logo após o processo de lavagem/higienização e menor que 2 log. ufc/mão para mãos com ou sem luvas no decorrer do manuseamento de recipientes/utensílios que contêm alimentos prontos para consumo. Para utensílios prontos a utilizar, expostos ou guardados, que contactam com alimentos prontos para consumo ou com as matérias-primas, o valor máximo admissível é menor do que 1 log. ufc/100cm². Já para superfícies, no decurso de laboração, o valor tem de ser inferior a 2 log. ufc/100cm², não obstante, logo após o processo de lavagem/higienização, esse limite diminui para 1 log. ufc/100cm² (INSA, 2019).

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 mãos de manipuladores de alimentos

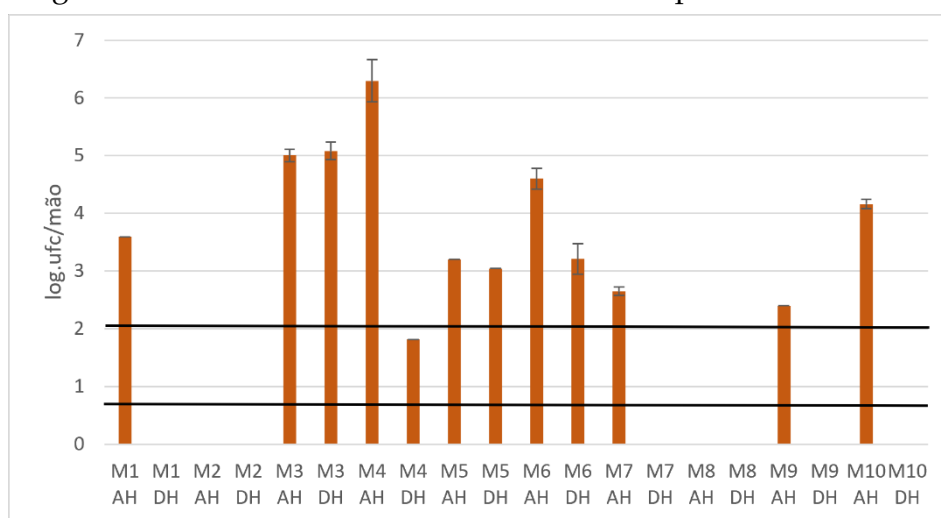


Figura 3.17 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/mão.

Para as mãos de manipuladores de alimentos no decorrer da laboração (antes da higienização) apenas 2 se encontravam dentro do valor máximo admissível de 2 log.ufc/mão. Nas amostras 2 e 8 não foi detetada qualquer *Enterobacteriaceae*, quer antes, quer após a higienização. Apesar da higienização ter diminuído a carga microbiana de *Enterobacteriaceae* nas outras 8 amostras, não foi suficiente para regularizar a situação, após a higienização, em 4 destas. Isso pode ter acontecido por não ser utilizado o sabonete ou desinfetante adequado, ou até pela lavagem não ter sido efetuada com todos os passos que a compõem.

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 facas

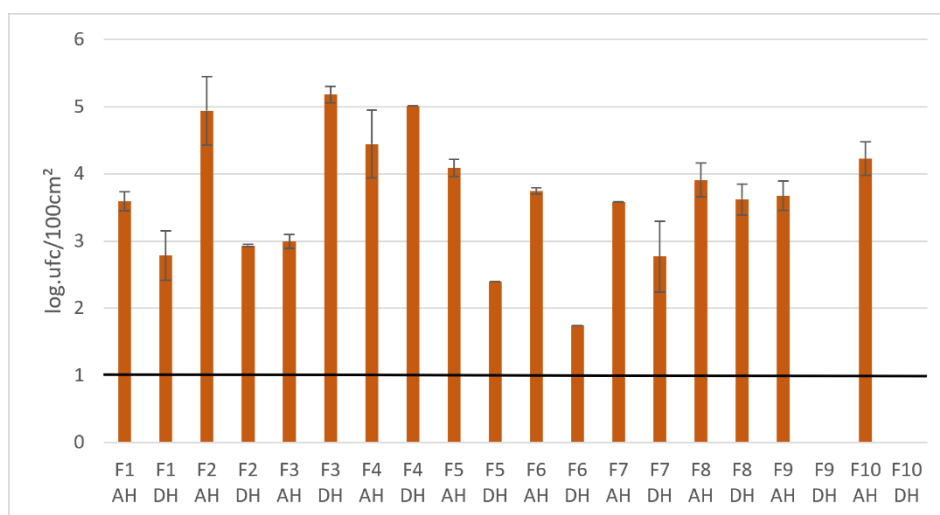


Figura 3.18 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

A contagem de membros da família das *Enterobacteriaceae* em 10 facas de 5 estabelecimentos de comércio a retalho de carne esteve, no geral, muito acima dos valores-guia estipulados pelo INSA. Apenas 2 facas, depois de higienizadas, cumpriram o limite estipulado para *Enterobacteriaceae* por área (1 log.ufc/100cm²) e nenhuma, antes de higienizada, cumpriu o mesmo limite. Apesar de uma faca (amostra 3) apresentar mais microrganismos depois de higienizada a 30 °C, em termos de *Enterobacteriaceae* duas facas (3 e 4) apresentaram mais destas bactérias depois da higienização do que antes.

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 superfícies

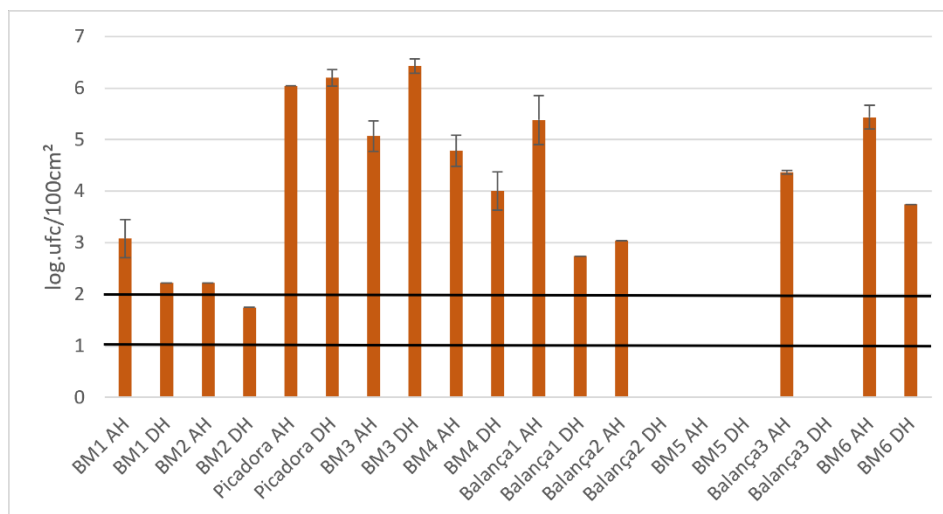


Figura 3.19 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 6 Bancadas Metálicas (BM), 1 Picadora e 3 Balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

As diferentes superfícies quando analisadas para averiguar as *Enterobacteriaceae*, demonstraram, na sua maioria, conter mais bactérias desta família do que o valor máximo admissível quer no decurso de laboração, quer logo após o processo de lavagem/higienização. Apenas as balanças 2 e 3, depois de higienizadas e a bancada metálica 5 antes e após higienização não demonstraram ter *Enterobacteriaceae* na área analisada. Na maioria dos casos a higienização diminuiu o número de unidades formadoras de colónia de *Enterobacteriaceae* por unidade de área, mas quanto à picadora e a uma bancada metálica não foi esse o caso. No caso da picadora não existe diferença entre o estado antes de higienizado e após higienização, já no caso da BM3 o resultado *Enterobacteriaceae* está de acordo com o resultado da higienização para MTV a 30 °C em que também o número de ufc aumentou com a higienização.

3.2.5 Resultados das análises a *Enterococcus sp.*

Em todas amostras de mãos de manipuladores de alimentos e facas analisadas nenhuma demonstrou ter qualquer bactéria do género *Enterococcus*. Assim, as condições de higiene, com respeito a *Enterococcus*, foram classificadas como satisfatórias. Estes resultados não foram replicados nas outras superfícies analisadas, uma vez que a balança 1 antes da higienização revelou ter 50 *Enterococcus sp.* nos 9 cm² analisados por recolha de zaragatoa, o que significa aproximadamente 56 ufc/10cm² de *Enterococcus sp.* Por não existirem valores de superfícies de preparação de géneros alimentícios, vai ser

considerado como não satisfatório, visto ter sido a única amostra a ter presente este tipo de microrganismos.

3.2.6 Resultados das análises a *Staphylococcus aureus*

Quanto às análises referentes a *S. aureus* para superfícies e mãos de manipuladores, os valores máximos usados como referência para que os resultados sejam considerados satisfatórios e aceitáveis, foram os estabelecidos por técnicos da Direção Municipal de Educação e Desporto da Câmara de Lisboa, como menor que 10 ufc/10cm², para mãos de manipuladores de alimentos e para superfícies (Figueiredo, 2019). Os resultados das análises com relação a *S. aureus* estão representados nas Tabelas 3.8 a 3.10 em ufc/10cm².

Tabela 3.8 - Contagem de *S. aureus* em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	Mão1	Mão2	Mão3	Mão4	Mão5	Mão6	Mão7	Mão8	Mão9	Mão10
AH	0	0	23 ± 20	11 ± 11	0	0	9 ± 0	2 ± 0	13 ± 0	0
DH	0	0	19 ± 0	19 ± 0	0	0	11 ± 0	7 ± 0	0	0

Nas mãos de manipuladores de alimentos, foram detetadas bactérias *S. aureus*, que normalmente estão presentes na microbiota humana (Tabela 3.8). Em 3 das 10 mãos analisadas (amostras 3, 4 e 9) o limite estipulado para a superfície da mão, em contexto alimentar, foi ultrapassado, antes da higienização. Mesmo depois de higienizadas, as mãos 3 e 4, continuaram além do limite já referido. Além destas, a mão 7 também mostrou conter mais *S. aureus* do que o aceitável após a higienização. Como já constatado com a análise aos microrganismos a 30 °C presentes nestas mãos, o processo de higienização não foi efetuado de forma correta, talvez por não terem sido realizados todos os passos da higienização, ou por não ser utilizado o sabonete/desinfetante mais adequado. O que se refletiu também com respeito à bactéria *S. aureus*.

Tabela 3.9 - Contagem de *S. aureus* em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	Faca1	Faca2	Faca3	Faca4	Faca5	Faca6	Faca7	Faca8	Faca9	Faca10
AH	0	0	3 ± 0	0	8 ± 0	0	0	0	3 ± 0	0
DH	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Contrariamente ao verificado para as mãos de manipuladores de alimentos, nas 10 facas analisadas verificou-se que nenhuma ultrapassou o limite estipulado para *S. aureus* em superfícies de 10 ufc/10cm².

Tabela 3.10 - Contagem de *S. aureus* em 6 bancadas metálicas (BM), 1 picadora e 3 balanças, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	BM1	BM2	Picadora	BM3	BM4	Balança1	Balança2	BM5	Balança3	BM6
AH	0	0	167 ± 0	56 ± 0	556 ± 0	56 ± 0	0	0	0	0
DH	0	0	56 ± 0	0	0	0	0	0	0	0

Nas 6 bancadas metálicas em estudo, duas apresentaram ter *S. aureus*, apenas antes de higienizadas, e ambas ultrapassaram o limite estipulado de 10 ufc/10cm². As outras 2 superfícies que também ultrapassaram este limite foram a picadora e a balança 1, que depois de higienizada, apresentou um resultado satisfatório, enquanto a picadora não. Tendo em conta os resultados, pode dizer-se que 9 das 10 superfícies analisadas mostraram ter resultados satisfatórios para *S. aureus*, depois de higienizadas.

As análises para *S. aureus* revelaram que todas facas antes e depois de higienizadas foram consideradas aceitáveis. As mãos de manipuladores de alimentos, assim como as superfícies, não tiveram um resultado satisfatório/aceitável para *S. aureus*, mesmo depois da higienização, em, respetivamente 3 e 1 amostras.

3.3 Resultados das análises a estabelecimentos de comércio a retalho de pescado

As amostras para análise a microrganismos específicos, a estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, foram recolhidas por método de zaragatoa, durante o período de 1 mês, em 5 estabelecimentos distintos. Assim como para estabelecimentos de comércio a retalho de carne, foram recolhidas amostras em 10 mãos, 10 facas e 10 superfícies, antes e após a higienização, as quais foram analisadas para a contagem de: microrganismos a 30 °C, microrganismos psicrotróficos, fungos, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus sp.* e *S. aureus*. Nas figuras e tabela que se seguem as amostras são denominadas de 1 até 10 (AH e DH) nas diferentes análises e referem-se à mesma amostra, ou seja, a amostra BM1 AH para microrganismos a 30 °C é a mesma amostra BM1 AH para as restantes análises.

3.3.1 Resultados das análises a MTV a 30 °C

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies a microrganismos a 30 °C são apresentados nas Fig. 3.20 a 3.22. Foram comparados com os valores de referência mencionados acima para microrganismos a 30 °C, a saber 4 log.ufc/mão no decurso da laboração e 2,7 log.ufc/mão logo após o processo de lavagem/higienização (INSA, 2019).

Contagem de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos

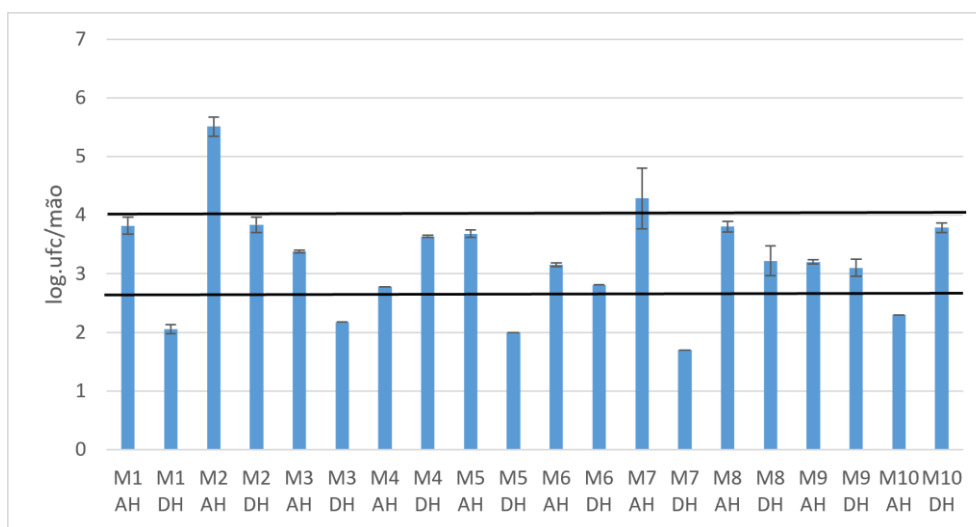


Figura 3.20 - Análise de MTV a 30 °C em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

No que diz respeito às mãos de manipuladores de alimentos, antes da higienização, apenas 2 das 10 amostras analisadas mostraram ter mais de 4 log.ufc/mão de microrganismos a crescer a 30 °C. Na maioria dos casos a higienização diminuiu o número de microrganismos a 30 °C presentes na amostra, no entanto, esta diminuição não foi o bastante para que todas as amostras se encontrassem dentro do limite aceitável, chegando mesmo a haver 2 casos em que o número de microrganismos aumentou depois da higienização. Das 10 mãos analisadas, 6 tiveram mais de 2,7 log.ufc/mão, tendo assim um resultado insatisfatório relativamente a este parâmetro, depois da higienização. Uma das razões para a obtenção destes resultados pode ter sido o uso de um material contaminado para a secagem das mãos, designadamente um pano de tecido, ou o recurso a uma torneira de acionamento manual. Desta forma, mesmo depois de higienizadas corretamente pode ter havido uma contaminação posterior que fez com que

estas passassem a ter mais microrganismos aquando da recolha da amostra por zaragatoa para análise.

Contagem de MTV a 30 °C em 10 facas

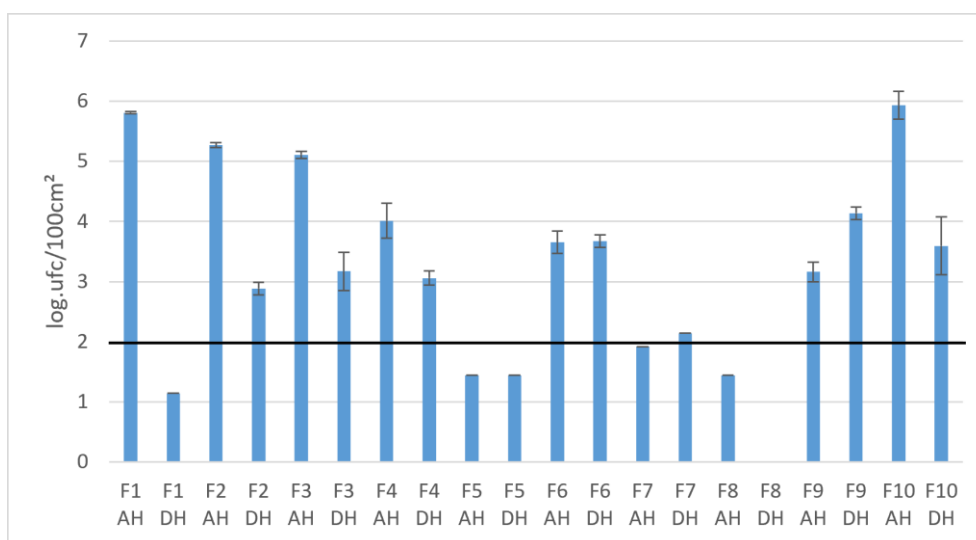


Figura 3.21 - Análise de MTV a 30 °C em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Nos valores de referência utilizados para utensílios, não é distinguido o antes ou após a higienização, sendo descrito que o valor-guia de 2 log.ufc/100cm² é para ser aplicado a utensílios prontos a utilizar, expostos ou guardados (INSA, 2019). De todas as facas analisadas, 2 delas (amostra 5 e 8) encontravam-se dentro do limite máximo admissível em ambos os momentos. Para além destas, a faca 1 depois de higienizada e a faca 7 antes da higienização também estiveram abaixo desse limite para MTV a 30 °C.

De entre as 10 facas analisadas, 2 (amostras 7 e 9) apresentaram ter mais microrganismos depois da higienização e uma delas (amostra 5) apresentou o mesmo número de ufc de microrganismos a 30 °C nas duas situações. Desta forma, na vasta maioria dos casos a higienização não teve um impacto muito grande na diminuição da carga microbiológica nas facas. Esta situação pode ser indicativa de que a higienização não é realizada de modo correto, talvez por não ser usado o produto químico de limpeza adequado, ou pelo material utilizado para o efeito estar em deficiente estado de conservação e/ou limpeza.

Contagem de MTV a 30 °C em 10 superfícies

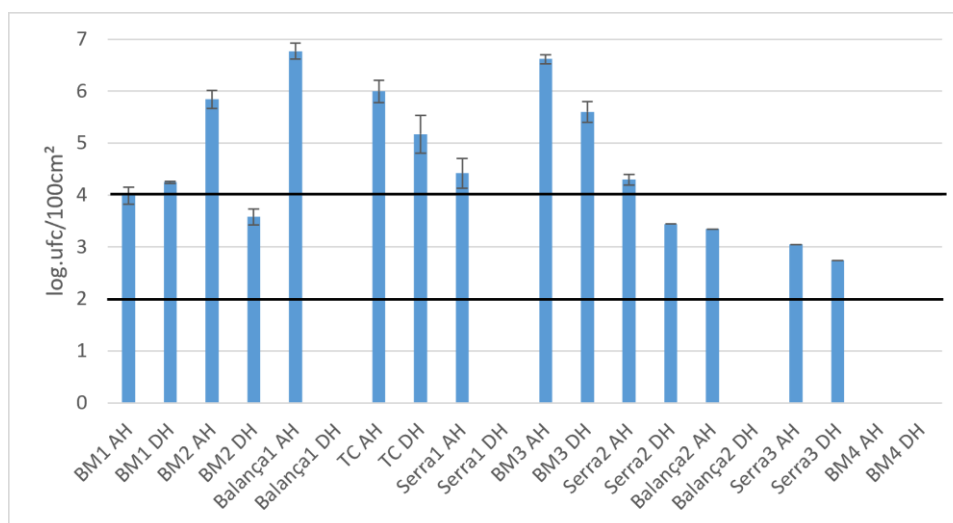


Figura 3.22 - Análise de MTV a 30 °C em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Como se pode verificar na Fig. 3.22, as superfícies dos 5 estabelecimentos de comércio a retalho de pescado em estudo, evidenciavam bastantes microrganismos a 30 °C. Apenas 2 superfícies (balança 2 e bancada metálica 4) se encontravam dentro dos limites máximos admissíveis para microrganismos a 30 °C quer antes, quer depois de higienizadas, não tendo sido mesmo detetados quaisquer microrganismos na bancada metálica 4, antes ou após a higienização. Destaca-se que para uma superfície no decurso da laboração o valor de referência é 4 log.ufc/100cm² e para as mesmas superfícies logo após o processo de lavagem/higienização é de 2 log.ufc/100cm². Todas as outras superfícies analisadas encontravam-se acima destes limites antes ou após a higienização ou em ambos os casos. Em todas as superfícies foi possível detetar uma diminuição da carga microbiana a 30 °C entre procedimentos, exceto na bancada metálica 1, onde essa carga aumentou ligeiramente e na 4 onde não existiu alteração, pois não foram detetados microrganismos antes ou após a higienização.

3.3.2 Resultados das análises a microrganismos psicrotróficos

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies a microrganismos psicrotróficos são apresentados nas Fig. 3.23 a 3.25 e, uma vez que não existem valores estipulados para este parâmetro, estes serão comparados com os microrganismos a 30 °C nas mesmas amostras.

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos

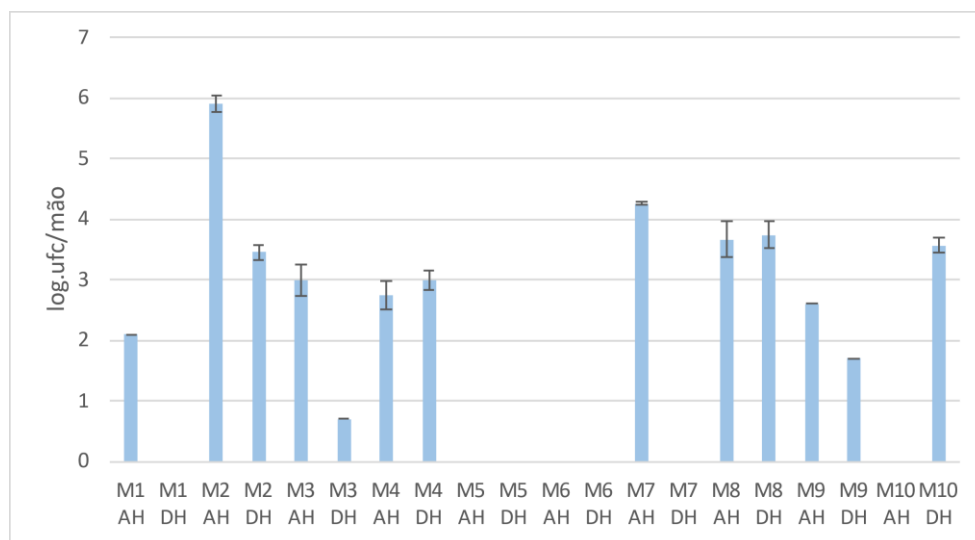


Figura 3.23 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/mão.

Na maior parte das 10 mãos de manipuladores de alimentos analisadas, houve uma diminuição do número de ufc de microrganismos psicrotróficos após a higienização, exceto em 3 casos (amostras 4, 8 e 10), onde os microrganismos psicrotróficos aumentaram depois da higienização, como se pode verificar na Fig. 3.23. Comparando com os resultados de microrganismos a 30 °C (Fig. 3.20), quase todas as amostras demonstraram ter menos microrganismos a crescer a 4 °C. Apenas a amostra referente à mão 2 antes da higienização e à mão 8, depois de higienizada, não mostraram ter diferenças significativas entre os microrganismos psicrotróficos e os microrganismos a 30 °C presentes nas amostras. Estes resultados sugerem a possibilidade de serem os mesmos microrganismos que têm a capacidade de crescer quer a temperaturas mais baixas (4 °C) quer a temperaturas mais próximas da temperatura ambiente.

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 facas

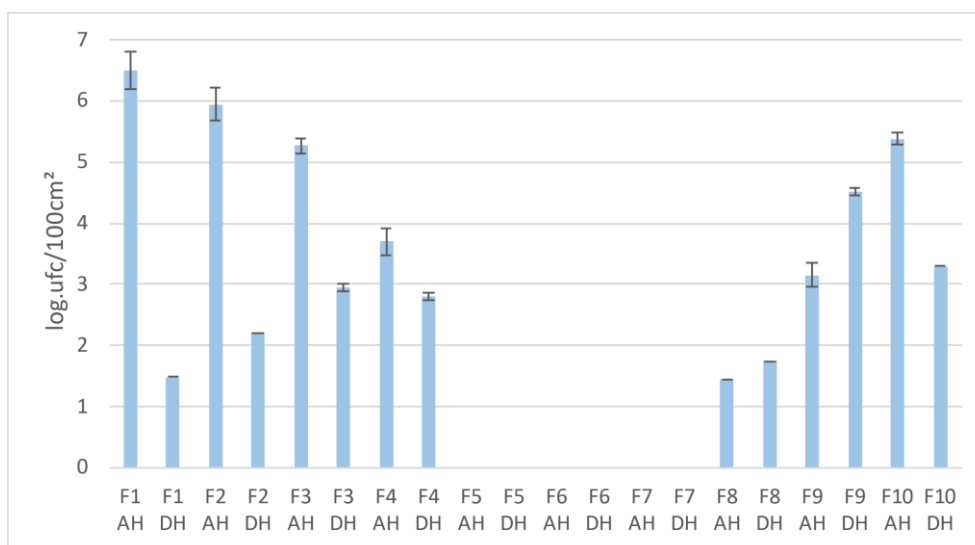


Figura 3.24 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log. ufc/100cm².

Em comparação com as análises a microrganismos a 30 °C (Fig. 3.21), 3 das 10 facas mostraram ter mais microrganismos a crescer a 4 °C do que a 30 °C (faca 1, 3 e 8 antes e após a higienização) assim como a faca 2 antes de higienizada e a faca 9 após higienização. Uma das facas (faca 4) mostrou ter um valor de microrganismos muito semelhante a crescer a 30 °C e a 4 °C, mais especificamente 3,83 log. ufc/100cm² antes da higienização e 2,99 log. ufc/100cm², para MTV a 30 °C e 3,79 log. ufc/100cm² antes da higienização e 2,84 log. ufc/100cm² após higienização para microrganismos psicrotróficos.

Uma vez que 2 facas apresentaram mais microrganismos psicrotróficos após este procedimento verifica-se que a higienização não é eficaz, com respeito a estas. Diferentemente das amostras analisadas para microrganismos a 30 °C, 3 das 10 facas não mostraram ter qualquer microrganismo a crescer a 4 °C. O que significa que os microrganismos a 30 °C, encontrados nestas amostras, não foram resistentes a temperaturas baixas, o que acontece com a maioria das bactérias mesófilas, pois têm uma temperatura de crescimento ótima entre os 20 a 45 °C, e dificilmente conseguem proliferar em temperaturas de refrigeração (Baptista e Venâncio, 2003).

Contagem de microrganismos psicrotróficos em 10 superfícies

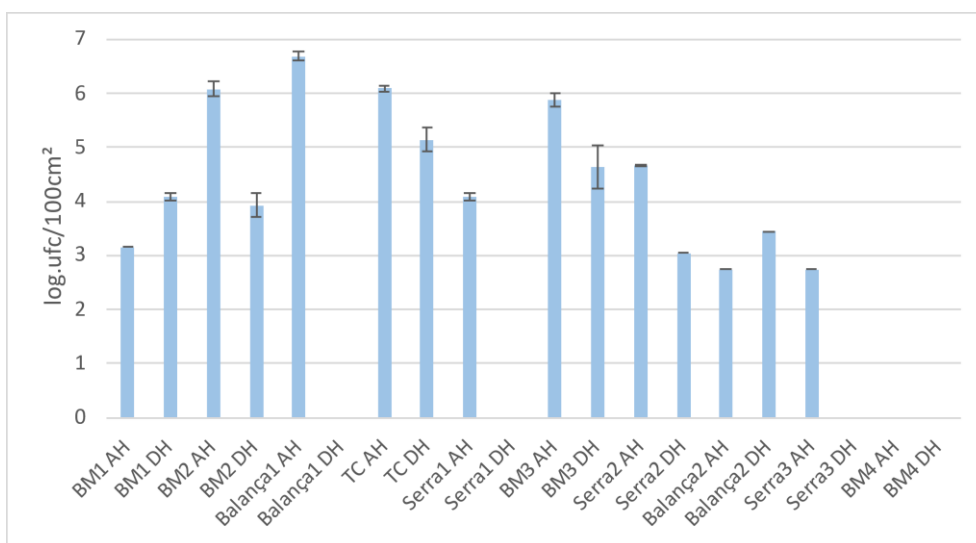


Figura 3.25 - Análise de microrganismos psicrotróficos em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

Das 10 superfícies analisadas, todas apresentaram menos microrganismos a 4 °C após a higienização, exceto a bancada metálica 1 e a balança 2, como se pode verificar na Fig. 3.25. Enquanto na análise para microrganismos a 30 °C apenas a bancada metálica 1 apresentou mais microrganismos após a higienização do que antes. Apenas a bancada metálica 4 não apresentou quaisquer microrganismos, antes ou após a higienização, quer para microrganismos a 30°C quer para psicrotróficos. Nas restantes amostras, todas apresentaram uma diminuição da carga microbiana para estes microrganismos após higienização. A maioria das amostras demonstraram ter menos microrganismos psicrotróficos do que mesófilos (MTV a 30 °C), à exceção da bancada metálica 2 e da tábua de corte, antes e depois da higienização, da serra 2, antes da higienização, e da balança, após a higienização.

Destaca-se que subsiste uma diferença entre estabelecimentos de comércio a retalho de carne e de pescado, em todas as categorias de amostras analisadas (mãos, facas e superfícies). Esta diferença prende-se com o facto de que todas as mãos de manipuladores de alimentos e a vasta maioria de facas e superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de carne obterem menos microrganismos a 4 °C do que microrganismos a 30 °C. Já as amostras recolhidas em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado mostraram ter mais microrganismos presentes a 4 °C do que a 30 °C em 2 mãos, metade das facas e 4 superfícies. Para esta diferença contribui as condições

em que a maioria dos estabelecimentos de comércio a retalho de pescado conserva o mesmo. O pescado é conservado, na maioria das vezes, por meio de gelo, à vista do consumidor, já a carne quando exposta é conservada nas vitrines que nem sempre chegam a temperaturas tão baixas como as que o gelo consegue proporcionar. Quando as mãos dos operadores, ou as facas a uso, contactam com o pescado é mais provável que adquiram mais microrganismos psicrotróficos do que quando contactam com a carne.

3.3.3 Resultados das análises a Fungos

As análises a fungos foram realizadas em facas e superfícies e comparadas com os padrões internacionais da *American Public Health Association* (APHA, 1992). Estes consideram uma superfície em condições satisfatórias de higiene, aquela que apresenta até 20 ufc/10cm² de fungos, antes ou após a higienização. Os resultados das análises apenas para facas, estão apresentados na Tabela 3.11.

Tabela 3.11 - Contagem de fungos em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em ufc/10cm²

Amostra	Faca1	Faca2	Faca3	Faca4	Faca5	Faca6	Faca7	Faca8	Faca9	Faca10
AH	56 ± 0	0	0	0	0	28 ± 0	0	0	0	56 ± 0
DH	0	0	0	0	0	0	0	0	28 ± 0	0

Como se pode verificar pelo resumo na Tabela 3.11, foram detetados fungos em 4 facas (em 3 antes do processo de higienização e 1 após este processo), nos 4 casos o limite de fungos foi ultrapassado. Em 3 situações a higienização baixou o número de ufc/10cm² de forma que depois da higienização essa faca fosse considerada em condições aceitáveis.

Com respeito às 10 superfícies de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado em análise não foi detetado nenhum fungo, de forma que os resultados não foram apresentados em formato de tabela.

Desta forma, todas superfícies e 9 facas estavam em condições satisfatórias de higiene no que se refere a fungos, após a higienização.

3.3.4 Resultados das análises a *Enterobacteriaceae*

Os resultados das análises a amostras de mãos de operadores, facas e superfícies para a família das *Enterobacteriaceae*, em estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, são apresentados nas Fig. 3.26 a 3.28 e serão comparados com os valores-guia publicados pelo INSA (2019).

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 mãos de manipuladores de alimentos

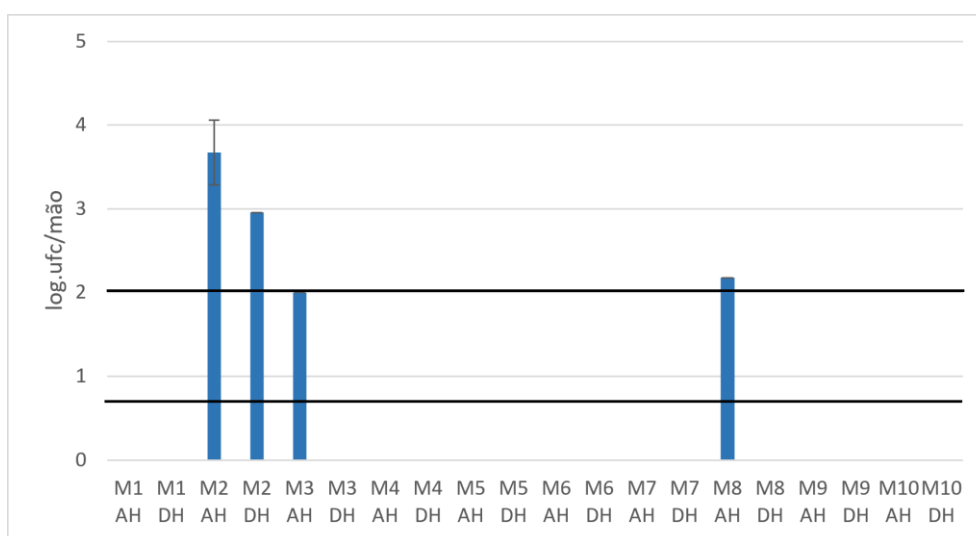


Figura 3.26 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 10 mãos de manipuladores de alimentos, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/mão.

Nas análises realizadas a 10 mãos de operadores de alimentos, foram detetadas bactérias da família das *Enterobacteriaceae* em 3 mãos. Estas amostras, antes de higienizadas, ultrapassaram o limite máximo admissível para *Enterobacteriaceae* considerado de 2 log.ufc/100cm². Após a higienização, o número de ufc de *Enterobacteriaceae* baixou consideravelmente, não se tendo detetado nenhuma bactéria desta família em 2 mãos. No entanto, a mão 2, após a higienização continuou acima do limite máximo admissível para mãos de manipuladores após higienização (0,7 log.ufc/mão). Assim, após higienização apenas 1 das 10 mãos analisadas estavam acima do limite máximo admissível para *Enterobacteriaceae*.

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 facas

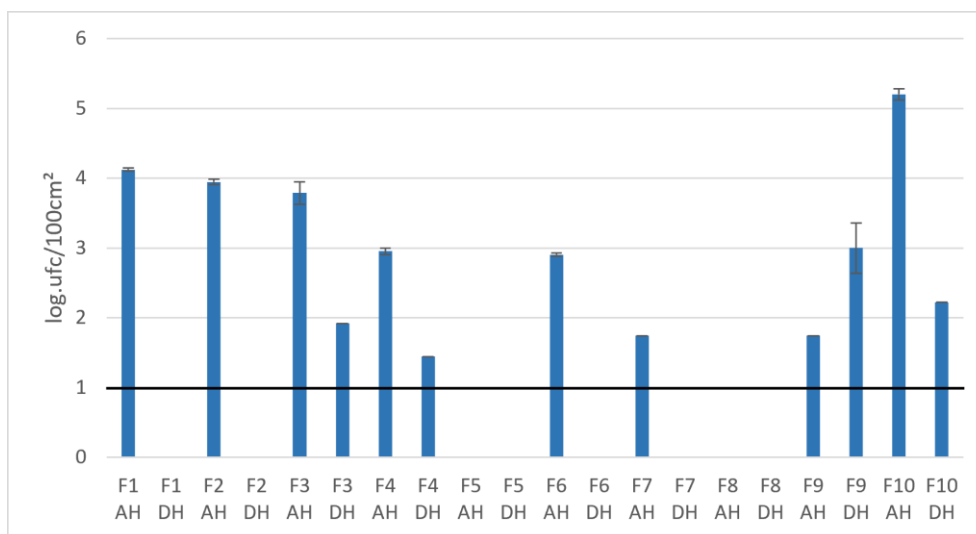


Figura 3.27 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 10 facas, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

No caso dos estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, 8 das 10 facas analisadas apresentaram valores de *Enterobacteriaceae* acima do máximo admissível (1 log.ufc/100cm²).

Metade das 8 facas só apresentaram estes valores antes de higienizadas, tendo a outra metade ultrapassado o limite mesmo depois da higienização. Para microrganismos a 30 °C, as facas 7 e 9 foram as únicas com mais microrganismos depois de higienizadas o que não se verificou para *Enterobacteriaceae* cujo único caso em que o número subiu depois da higienização foi no da faca 9.

Contagem de *Enterobacteriaceae* em 10 superfícies

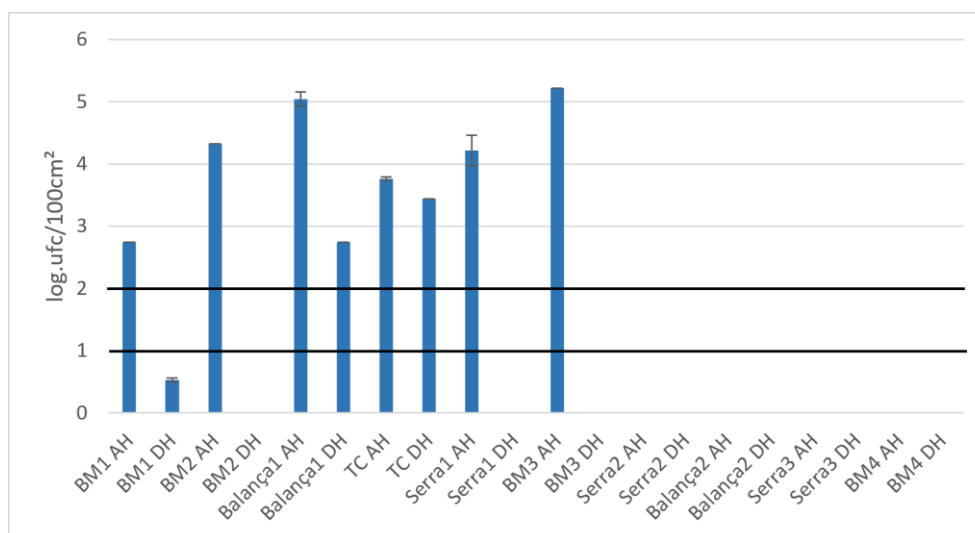


Figura 3.28 - Análise de *Enterobacteriaceae* em 4 Bancadas Metálicas (BM), 2 Balanças, 1 Tábua de corte (TC) e 3 Serras, antes (AH) e depois da sua higienização (DH) em log.ufc/100cm².

As superfícies apresentaram valores de *Enterobacteriaceae* muito diferentes. As serras 2 e 3, a balança 2 e a bancada metálica 4 não tiveram nenhuma bactéria desta família antes ou depois da higienização. Por outro lado, as 6 superfícies restantes estavam contaminadas antes da higienização com mais do que 2 log.ufc/100cm², o valor máximo admissível para superfícies no decurso da laboração. Depois da higienização, 4 não ficaram contaminadas acima do limite máximo admissível e as outras 2 mantiveram valores acima de 1 log.ufc/100cm².

Na maioria dos casos a higienização diminuiu o número de *Enterobacteriaceae*, mas na bancada metálica 1 não foi esse o caso. O mesmo aconteceu para microrganismos a 30 °C, em que o número de ufc aumentou com a higienização.

3.3.5 Resultados das análises a *Enterococcus sp.*

Em nenhuma das amostras recolhidas de mãos de manipuladores de alimentos, facas e superfícies foi encontrada qualquer bactéria do género *Enterococcus*. Assim, por não existirem valores de referência para este género de bactérias, no contexto de superfícies de preparação de géneros alimentícios, foram classificadas como satisfatórias, visto não terem sido detetadas quaisquer bactérias deste género nas amostras.

3.3.6 Resultados das análises a *Staphylococcus aureus*

Segundo técnicos da Direção Municipal de Educação e Desporto da Câmara de Lisboa, uma superfície ou mão de manipulador de alimentos, é considerada satisfatória quando a contagem de *S. aureus* é menor que 10 ufc/10cm² (Figueiredo, 2019). Nas amostras recolhidas de facas e superfícies não foram encontradas bactérias dessa espécie. Desta forma, todas foram classificadas como satisfatórias para este parâmetro.

No entanto, quanto às análises referentes a *S. aureus* para mãos de manipuladores de alimentos, foram detetados valores em 4 mãos, cujo valor máximo foi de 9 ufc/10cm², abaixo do limite referido. Todas as mãos de manipuladores de alimentos se encontravam num estado satisfatório, para este parâmetro.

CONCLUSÃO

As mãos dos manipuladores de alimentos, os utensílios e as superfícies representam uma via proeminente de propagação de microrganismos. Para impedir a contaminação de géneros alimentícios é necessário dar formação a quem contacta diretamente com estes.

Destaca-se o facto de existir consciência que os dados obtidos neste estudo não podem ser generalizados a um universo que não seja o da amostra observada, pois as características de cada manipulador e estabelecimento diferem, tornando-os únicos, e a amostra é relativamente pequena tendo em comparação o número de estabelecimentos que existem no município. No entanto, defende-se que o trabalho realizado permitiu a constatação das condições de higiene das mãos dos manipuladores de alimentos no momento da manipulação, bem como dos utensílios e superfícies analisados e a eficiência da higienização aplicada.

Esta dissertação concentrou-se, não em microrganismos patogénicos, mas nos microrganismos que muito provavelmente já estariam presentes em estabelecimentos do setor alimentar, como microrganismos a 30 °C, microrganismos psicrotróficos, *Enterobacteriaceae*, fungos e *S. aureus*. Os microrganismos que crescem a diferentes temperaturas são um indicador de higiene geral para superfícies que estejam à temperatura ambiente ou à temperatura de refrigeração. A sua fonte de contaminação é muito variada: ambiente, matérias-primas e manipulação. Foram encontrados mais microrganismos a 30 °C do que microrganismos psicrotróficos na generalidade das amostras (em mãos, facas e superfícies). Este resultado está de acordo com o tipo de temperatura a que os estabelecimentos se encontram. Para microrganismos a 30 °C foi possível verificar que em estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado a

maioria das amostras ultrapassou o limite máximo admissível para este parâmetro, sendo assim classificados como não satisfatórios.

As *Enterobacteriaceae* estão naturalmente presentes no trato gastrointestinal do Homem e de animais de sangue quente, em matérias-primas de origem vegetal, estando algumas também disseminadas no meio ambiente (ex. solo, água, ambientes marinhos). Nos resultados obtidos verifica-se que mais de metade das amostras, antes da higienização, encontravam-se num estado não satisfatório de higiene para esta família de bactérias.

Os fungos disseminados no meio ambiente e nos produtos de origem vegetal, podem ser transferidos para os alimentos, por contacto com equipamentos contaminados ou por exposição ao ar, conseguindo ser contaminantes de ingredientes utilizados na preparação (INSA, 2019). Foram detetados fungos em facas e superfícies de estabelecimento de comércio a retalho de carne e em facas de estabelecimentos de comércio a retalho de pescado, mas na maioria das amostras a higienização foi eficiente com respeito a estes microrganismos.

O principal reservatório de *S. aureus* é o Homem, sendo frequente a presença desta bactéria na pele e membranas mucosas (oral e nasal). Tendo em conta que na cavidade nasal a prevalência de *S. aureus* pode variar entre 20 a 50% na população adulta, facilmente estas bactérias passam para as mãos destes e por consequência para as superfícies e utensílios que eles usam. Foram detetado mais *S. aureus* em estabelecimentos de comércio a retalho de carne do que de pescado. O limite para estes microrganismos foi ultrapassado apenas nos estabelecimentos a comércio a retalho de carne para mãos de manipuladores de alimentos e para as superfícies analisadas.

A determinação de microrganismos a 30 °C, microrganismos psicrotróficos, *Enterobacteriaceae*, fungos e *S. aureus* fez com que fosse possível avaliar as condições de higiene dos diferentes estabelecimentos, antes e após a higienização efetuada pelos operadores. Também se incluíram pesquisa de *Enterococcus* como parâmetro extra, por haver esta possibilidade, e por poder também ser indicador de contaminação fecal. Foram detetadas bactérias deste género em apenas uma amostra de superfície num estabelecimento de comércio a retalho de carne.

Estes resultados, obtidos em colaboração com a ASVM/CMA, ficam registados nesta dissertação para que também lhes pudesse servir para consulta. A avaliação de microrganismos a 30 °C contribuiu para identificar onde a necessidade de monitorização é maior, em estabelecimentos de comércio a retalho de carne e pescado.

Um resultado verificado foi uma deficiência no procedimento da lavagem das mãos. Embora o procedimento correto para a lavagem das mãos seja do conhecimento geral (acrescentando o facto de que, pela pandemia, foi muito reforçado), este não é muitas vezes efetuado da forma correta. Assim como a higienização de superfícies, por vezes feita com recurso a outros materiais que não o papel descartável.

Apesar da formação ser ministrada, estando até mesmo legislada, não parece ter impacto nos colaboradores, no sentido em que não a implementam da forma mais adequada e na sua totalidade. Esta prática foi relatada em diferentes operadores do setor alimentar em diferentes estudos. Um estudo realizado por Byrd-Bredbenner *et al.* (2007), já mencionado, relatou que apesar de 97% dos participantes terem avaliado o seu conhecimento de segurança alimentar como pelo menos razoável; 60% não lavaram as mãos com água e sabão depois de tocar em aves cruas. Outro estudo da *Food Standards Agency* realizado entre estabelecimentos de restauração do Reino Unido, citado por Soon e Baines (2012) revela que um terço dos manipuladores não lava as mãos após o uso das instalações sanitárias e que mais de metade não lava as mãos antes de preparar os alimentos.

Para a não aplicação de conhecimentos registados podem contribuir vários fatores, como seja a falta de condições estruturais (desde as instalações sanitárias até à cozinha ou salas de preparação de produto para venda), condições de trabalho, a adequação do conteúdo da formação ao contexto de trabalho, entre outros.

Segundo Evans e McCormack (2008) as intervenções que dependem exclusivamente da transferência de conhecimentos, como palestras que informam os colaboradores, foram ineficazes em instituir ou sustentar mudanças no comportamento. Citando Rossi *et al.* (2016), uma outra explicação pode ser a visão otimista dos manipuladores de alimentos do seu próprio trabalho. Neste estudo verificou-se que os manipuladores de alimentos abrangidos, tendem a ver o seu trabalho como não causador de risco de doenças alimentares em comparação a outros colegas da mesma empresa ou de outras empresas. Algumas razões dadas como justificação para este fenómeno são as seguintes: a) a tendência de prever que os seus resultados serão mais favoráveis do que os seus colegas (Shepperd *et al.*, 2015; Weinstein, 2011); b) a sobrestimação e o excesso de confiança nos seus próprios conhecimentos e habilidades (Dunning *et al.*, 2004); c) a subestimação do controlo dos outros (Shepperd *et al.*, 2013); e d) comportamento de “autodefesa” (Wills, 1981), no qual as pessoas não reconhecem a sua vulnerabilidade a eventos negativos, mas reconhecem essa vulnerabilidade para os outros.

As formações *in situ* durante um dia de trabalho, ou com recurso a vídeos, tem-se provado mais eficaz (Soon e Baines, 2012). Para além das formações já ministradas e requeridas por lei, uma proposta para trabalho futuro é dar uma formação enquanto os operadores estão a trabalhar e chamar-lhes à atenção sempre que não cumprirem as normas de higiene, passar algum tempo, como um dia com eles. Visto que tal teria uma grande logística associada, talvez passar esta informação aos responsáveis dos estabelecimentos possa ser mais prático, pois eles podem sugerir esta implementação às equipas que lhes dão formação. Desta forma, existe a necessidade de envolver toda a cadeia hierárquica para o bom cumprimento de todos os procedimentos de higienização.

Outra alternativa é colocar nos estabelecimentos um temporizador que, de 30 em 30 minutos, soaria para que os colaboradores procedessem à higienização das mãos naquele momento e, para que o tempo adequado da higienização fosse cumprido, a higienização poderia ser realizada durante a canção parabéns, ou outra com duração semelhante, de forma a cumprir o tempo. É recomendado pela DGS (Direção Geral de Saúde) que a duração total do processo seja entre 40 e 60 segundos (DGS, sem data) e pela CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) que as mãos sejam esfregadas pelo menos 20 segundos (DCD, 2022) (a duração da canção parabéns).

BIBLIOGRAFIA

- Afonso, A. (2008) Análise de perigos. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 5, 26-28.
- Almeida, R. C. D. C., Kuaye, A. Y., Serrano, A. D. M., e Almeida, P. F. D. (1995). Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos.
- American Public Health Association (1992) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3ª Ed. Washington, DC.
- ASAE (2009) Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, "Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal", Lisboa, Portugal.
- Assembleia Municipal de Almada (2022) Freguesias. <https://www.am-almada.pt/freguesias/>, consultado em outubro de 2022.
- ASVM (2019) *Plano plurianual de atividade*. Área de Higiene e Segurança Alimentar, Câmara Municipal de Almada.
- Baptista, P. e Venâncio, A. (2003) Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. *Forvisão*, 1(1), pp. 1-109.
- Baptista, P., Saraiva, J. (2003) Higiene pessoal na indústria alimentar. *Forvisão – Consultoria em Formação integrada*, Lda.
- Bell, C. e Kyriakides, A. (1998) *E. coli: a practical approach to the organism and its control in foods*.
- Bernardo, F. (2006) Perigos Sanitários nos Alimentos – Estima-se a existência de mais de 5 mil perigos sanitários de origem alimentar no mundo. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1, 6-8.

Borges, L. F., Silva, B. L., Gontijo Filho, P. P. (2007) Hand washing: Changes in the skin flora. *American Journal of Infection Control*, 35(6), 417– 420.

Byrd-Bredbenner, C., Maurer, J., Wheatley, V., Schaffner, D., Bruhn, C. e Blalock, L. (2007). Food safety self-reported behaviors and cognitions of young adults: results of a national study. *Journal of Food Protection*, 70(8), 1917e1926.

CAC (2003) Codex Alimentarius Commission. Recommended international code of practice general principles of food hygiene. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003. Rome: Codex Alimentarius Comission.

Câmara Municipal de Lisboa (sem data). Refeições. Acedido a 05 de julho, 2018, <http://www.cm-lisboa.pt/viver/educacao/dentro-da-escola/apoios-escolares-refeicoes/refeicoes>. Citado por Figueiredo, A.C. (2019) *Avaliação da qualidade microbiológica e condições de manuseamento de alimentos servidos em Escolas Básicas de Lisboa, Portugal*. Dissertação de mestrado, FC/UL, Lisboa, p. 17.

CDC (2022) When & How to Wash Your Hands. URL: <https://www.cdc.gov/handwashing/when-how-handwashing.html>, consultado em novembro de 2022.

Chung, S. P. (2019) Scombroid fish poisoning and histamine food poisoning. *Journal of the Korean Society of Clinical Toxicology*, 17(1), 1-6.

Cowan, K. (2012) *Microbiology A Systems Approach*. 3ª ed. New York: McGraw-Hill. 180-682.

Decreto-Lei n.º 10/2015 (2015) No uso da autorização legislativa concedida pela Lei n.º 29/2014, de 19 de maio, aprova o regime de acesso e de exercício de diversas atividades de comércio, serviços e restauração e estabelece o regime contraordenacional respetivo. *Diário da República* n.º 11, Série I, 16 de janeiro de 2015, pp. 454 - 499.

Decreto-Lei n.º 116/98 (1998) Estabelece os princípios gerais da carreira de médico veterinário municipal (revoga os Decretos-Leis n.ºs 143/83, de 30 de Março, e 436/89, de 19 de Dezembro). *Diário da República* n.º 103, Série I-A, 05 de maio de 1998, pp.1990-1991.

Decreto-Lei n.º 147/2006 (2006) Aprova o Regulamento das Condições Higiénicas e Técnicas a Observar na Distribuição e Venda de Carnes e Seus Produtos, revogando os Decretos-Leis n.ºs 402/84, de 31 de Dezembro, e 158/97, de 24 de Junho. Diário da República n.º 146, Série I, 31 de julho de 2006, pp. 5442 - 5451.

Decreto-Lei n.º 207/2008 (2008) Procede à primeira alteração ao Decreto-Lei n.º 147/2006, de 31 de Julho, que aprova o Regulamento das Condições Higiénicas e Técnicas a Observar na Distribuição e Venda de Carnes e Seus Produtos, revogando os Decretos-Leis n.ºs 402/84, de 31 de Dezembro, e 158/97, de 24 de Junho. Diário da República n.º 206, Série I, 23 de outubro de 2008, pp. 7502 - 7512.

DGAV (sem data) *Formação*. <https://www.dgav.pt/alimentos/conteudo/generos-alimenticios/iniciar-uma-empresa-alimentar/formacao/>, consultado em outubro de 2022.

DGS (sem data) Lavagem das mãos. Serviço Nacional de Saúde. República portuguesa. Lisboa, Portugal.

Duarte, S. S. H. (2014) Estudo Comparativo de Implementação do Sistema HACCP em Talhos no Distrito de Setúbal. Dissertação de Mestrado, FCT/UNL, Lisboa, 45 p.

Dunning, D., Heath, C. e Suls, J. M. (2004). Flawed self-assessment implications for health, education, and the workplace. *Psychological Science in the Public Interest*, 5(3), 69e106.

FAO (2002) The State of Food Insecurity in the World 2001. Rome pp. 4-7.

FAO (2003) 8th Report of the WHO surveillance programme for control of food-borne infections and intoxications in Europe (1999-2000). Country Reports: Portugal.

FAO/WHO (2005) Food and Agriculture Organization/ World Health Organization: Codex alimentarius, food hygiene: basic texts. (3d ed.). Codex Alimentarius Comission, 2005.

Forsythe, S. J. (2000) The Microbiology of Safe Food. 1ª Ed. Blackwell Science Ltd., Osney Mead, Oxford, Reino Unido, 412 p.

Griffith, C. (2000). Food safety in catering establishments. In J. M. Farber, & E. C. D. Todd (Eds.), *Safe handling of foods* (pp. 235e256). New York: Marcel Dekker, Inc.

Health Protection Agency (2009) *Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market*. Health Protection Agency. London.

INSA. (2019) Interpretação de Resultados de Ensaaios Microbiológicos em Alimentos Prontos Para Consumo e em Superfícies do Ambiente de Preparação e Distribuição Alimentar: Valores Guia.

Khoury, A. e Atoui, A. (2010) Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status. *Toxins* 2: 461-493

Lopes, A. M. R. M. (2009) Avaliação da contaminação em metais pesados no pescado: Análise da situação do pescado comercializado em Portugal e dos alertas emitidos pelo sistema RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Dissertação de Mestrado, FCT/UNL, Lisboa, 22-44 p.

Lues, J. F. R., Tonder, I. V. (2007) The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, 18, 326–332.

Maia, M. C. R. (2015) Ocorrência de histamina em produtos alimentares disponíveis no mercado: qual o risco do seu consumo? Dissertação de Mestrado, UC, Coimbra, 6-9 p.

Marais, M. e Conraddie, N. (2007) Small and micro enterprises – aspects of knowledge, attitudes and practices of managers’ and food handlers’ knowledge of food safety in the proximity of Tygerberg Academic Hospital , Western. *South African Journal of Clinical Nutrition*.;20:50–61.

Monteiro, V. (2010) Higiene, Segurança, Conservação e Congelação de Alimentos. 4ª Ed. LIDEL – Edições Técnicas, Lda., Lisboa, Portugal, 210 p.

Nações Unidas (1975) Report of the World Food Conference, Rome 5-16 November 1974. New York.

Noronha, J. (sem data) Manual de higienização da indústria alimentar.
http://www.esac.pt/noronha/manuais/Manual_higienizacao_aesbuc.pdf, consultado em junho de 2022.

Pragle, A. S., Harding, A. K., Mack, J. C. (2007) Food workers' perspectives on hand washing behaviors and barriers in the restaurant environment. *Journal of Environmental Health*, 69(10), 27–32.

Regulamento (CE) n.º 1831/2003 da Comissão Europeia, de 19 de dezembro de 2003. Fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 364 de 20 de dezembro de 2003, pp. 5-24.

Regulamentos (CE) nº 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril de 2004. Higiene dos Géneros Alimentícios, Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 139 de 30 de abril de 2004, pp. 1 – 54.

Resende, D. S., Nascimento, J. B., Santos, J. G. S., Melo, S. B., Brito, D. D. (2007) Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos em um ambiente escolar em Itumbiara/GO. *Praxis*, 10; 41-46. Acedido em 30 de maio, 2022, disponível em http://www.editoradaulbra.com.br/catalogo/periodicos/pdf/periodico17_10.pdf

Rossi, M. D. S. C., Stedefeldt, E., da Cunha, D. T. e de Rosso, V. V. (2017). Food safety knowledge, optimistic bias and risk perception among food handlers in institutional food services. *Food control*, 73, 681-688.

Santos, Q. (2013) Satisfação dos Colaboradores de uma Instituição Particular de Solidariedade Social-IPSS: estudo de caso Dissertação de Mestrado, FCT - UFP, Porto, 7p.

Shepperd, J. A., Klein, W. M. P., Waters, E. A. e Weinstein, N. D. (2013). Taking stock of unrealistic optimism. *Perspectives on Psychological Science*, 8(4), 395-411.

Shepperd, J. A., Waters, E. A., Weinstein, N. D. e Klein, W. M. P. (2015). A primer on unrealistic optimism. *Current Directions in Psychological Science*, 24(3), 232-237.

Soon, J. M., Baines, R. N. (2012) Food safety training and evaluation of handwashing intention among fresh produce farm workers. *Food Control*, 23, 437-448.

Souza, A. L. M. D., Calixto, F. A. A., Mesquita, E. D. F. M. D., Packness, M. D. P., e Azeredo, D. P. (2016) Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. *Arquivos do Instituto Biológico*, 82, 01-11.

Vaz, A., Moreira, R., e Hogg, T. (2000) *Introdução ao HACCP*. 1ª Ed. Serviços de Edição da ESB/UCP. Porto, Portugal, 6p

Vieira, R. H. S. D. F., Rodrigues, D. D. P., Barreto, N. S. E., Sousa, O. V. D., Tôres, R. C. D. O., Ribeiro, R. V., Saker-Sampaio, S., Nascimento, S. M. M.; Costa, F. A. P. e Madeira, Z. R. (2004) Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. In: Varela (ed), *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. Varela, São Paulo. pp. 380-380.

Walls, H., Baker, P., Chirwa, E., Hawkins, B. (2019) Food security, food safety & healthy nutrition: are they compatible?. *Global Food Security*, 21, 69-71.

Weinstein, N. D. (2011). Unrealistic optimism about future life events: A cautionary note. *Psychological Review*, 118(1), 135e154. <http://dx.doi.org/10.1037/a0020997>.

WHO (2008) Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. World Health Organization.

Wills, T. A. (1981). Downward comparison principles in social psychology. *Psychological Bulletin*, 90(2), 245e271.



2022

ANA RITA CORTES LOPES

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE BOAS PRÁTICAS DE HIGIENE EM ESTABELECIMENTOS
NO CONCELHO DE ALMADA