



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

FELIPE VERÍSSIMO DE LIMA

**QUALIDADE DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL SERVIDOS EM UNIDADES
DE EDUCAÇÃO INFANTIL**

MOSSORÓ-RN

2019

FELIPE VERÍSSIMO DE LIMA

**QUALIDADE DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL SERVIDOS EM UNIDADES
DE EDUCAÇÃO INFANTIL**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr.

MOSSORÓ-RN

2019

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

L732q Lima, Felipe Veríssimo de.
Qualidade de alimentos de origem animal
servidos em Unidades de Educação infantil / Felipe
Veríssimo de Lima. - 2019.
69 f. : il.

Orientador: Jean Berg Alves da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2019.

1. alimentação escolar. 2. manipulação de
alimentos. 3. qualidade higiênico-sanitária. 4.
segurança alimentar. I. Silva, Jean Berg Alves da,
orient. II. Título.

FELIPE VERÍSSIMO DE LIMA

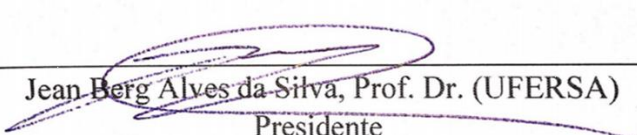
**QUALIDADE DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL SERVIDOS EM UNIDADES
DE EDUCAÇÃO INFANTIL**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal.

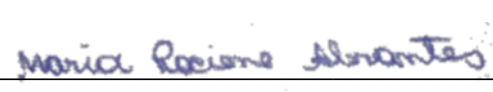
Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Defendida em: 28 / 02 / 2019

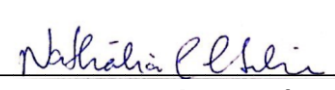
BANCA EXAMINADORA



Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente



Maria Rociene Abrantes, Prof^a. Dra. (UFERSA)
Membro Examinador



Natália Cristina Cirone Silva, Prof^a. Dra. (UNICAMP)
Membro Examinador

Aos meus pais, pelo apoio incondicional
durante toda a minha jornada, mesmo que
parte dela tenha sido longe de seus braços.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A causa primária de todas as coisas: Deus, que sempre esteve ao meu lado por meio dos amigos e mentores espirituais nos momentos mais felizes e não tão felizes.

Aos meus pais, José e Ivanete e irmão, Pedro, minha família que me dá apoio incondicional em todas as fases da minha vida, me auxiliando e sendo um porto seguro.

A minha amiga, Ana Paula, que quando eu estava desacreditado do meu potencial disse-me “você só precisa de uma vaga e você é só um, essa é sua”.

Ao meu orientador, Jean Berg, que desde o primeiro contato se fez presente como um farol, sabendo cobrar resultados e instigar a produção científica.

A banca examinadora, as doutoras que puderam contribuir diretamente com a produção dessa dissertação, agradeço a participação e as contribuições que serviram como bússola norteadora.

Aos meus colegas do LIPOA que puderam participar direta ou indiretamente, seja colocando a mão na massa, no caso da minha equipe, seja com palavras motivacionais e críticas construtivas.

Aos meus colegas da UNICAMP que foram peça fundamental para a agregação de conhecimento e impacto na minha pesquisa, vocês foram minha família nessa jornada em Campinas-SP.

Aos familiares e amigos que compreenderam minha ausência em comemorações e em suas vidas, que me apoiaram com palavras motivadoras e orações.

A Secretaria Municipal de Educação de Mossoró-RN por proporcionar as melhores condições de desenvolvimento para a pesquisa.

Ao CNPq pela credibilidade em ofertar a bolsa de mestrado afim de fomentar a pesquisa acadêmica.

A todos, minha gratidão.

É possível encontrar a felicidade mesmo nas horas mais sombrias, se a pessoa se lembrar de acender a luz.

Albus Dumbledore

Lumos

RESUMO

A Política Nacional da Alimentação Escolar (PNAE) é planejada para atender os alunos da rede pública de ensino, ofertando refeições que venham atender as exigências nutricionais, de boa qualidade e seguras. Sabendo que há profissionais nutricionistas elaborando o cardápio e garantindo a oferta de uma alimentação saudável, surge a preocupação quanto à qualidade no processo de produção desta alimentação nas cozinhas das escolas. O objetivo desse estudo foi avaliar as condições higiênico-sanitárias e a qualidade dos alimentos de origem animal, na fase de pré-preparo, presentes no cardápio das Unidades de Educação Infantil (UEI) do município de Mossoró-RN atendidas pelo PNAE. Para isso, selecionou-se 30% das UEI (n=12). Após a permissão da Secretaria de Educação municipal realizou-se três visitas as UEI: a primeira para explicar a proposta do trabalho, a segunda em um dia sem aviso prévio para aplicação do *check-list* e coleta das amostras (carne bovina, frango, leite em pó, água, suabes de bancada, faca de corte de carnes e tábua de carne), totalizando 84 amostras, e a terceira para divulgação dos resultados e sugestões de melhorias. As análises microbiológicas realizadas foram: coliformes a 35°C e 45°C, mesófilos, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp. nas amostras de alimentos e nos suabes de equipamentos e utensílios: coliformes a 35°C e 45°C e mesófilos. Posteriormente foram realizadas análises moleculares para identificação e caracterização de *Staphylococcus aureus* e o estudo do perfil fenotípico de resistência. O resultado do *check-list* revelou que 83% das UEI encontram-se classificadas como inadequadas para os parâmetros de condições higiênico-sanitárias. Dos itens avaliados o de “manipuladores” apresentou o maior índice de inadequação (75%). Observou-se contaminação de coliformes a 35°C e 45°C na água destinada a preparação dos alimentos, uma elevada presença de mesófilos nas bancadas, tábuas e faca para corte de carnes. Em relação aos alimentos, dos 180 isolados de *Staphylococcus* spp., 96 (53,3%) foram confirmados como *Staphylococcus aureus* por PCR. Destes, 62 (64,6%) apresentaram genes para produção de enterotoxinas estafilocócicas (A, G e I). O percentual de resistência à oxacilina e/ou cefoxitina foi observado em 100% dos isolados de *S. aureus*. O gene *mec A* e *mec C* foram encontrado em 84,4% e 55,2% dos isolados. As UEI analisadas apresentam inadequações que podem afetar diretamente a saúde de mais de 1800 pré-escolares matriculados expondo-os ao contato com bactérias superresistentes à antibióticos.

Palavras-chave: alimentação escolar, manipulação de alimentos, qualidade higiênico-sanitária, segurança alimentar.

ABSTRACT

The National School Food Policy (PNAE) is designed to meet the students of the public school, offering meals that meet nutritional requirements, good quality and safe. Knowing that there are nutritionists preparing the menu and guaranteeing the supply of a healthy diet, there is concern about the process of producing this food in school kitchens. The objective of this study was to evaluate the hygienic-sanitary conditions and the microbiological quality of the animal foods in the pre-preparation phase, present in the menu of the Infant Education Units (UEI) of the municipality of Mossoró-RN attended by the PNAE. For this, a 30% draw of the UEI was selected. After the permission of the Municipal Secretary of Education, three visits were made to the UEI: the first to explain the proposal of the work, the second on a day without notice for the application of the checklist and sample collection (beef, chicken, milk powder, water, countertops and utensils) and the third to disseminate the results and suggestions for improvements. The microbiological analyzes were: coliforms at 35°C and 45°C and mesophiles in all samples, and *Staphylococcus* spp. and *Salmonella* spp. in food samples. Subsequently, molecular analyzes were performed to identify and characterize *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance. The result of hygienic-sanitary classification revealed that 83% of the UEI are in bad conditions. Of the items evaluated, the "manipulators" presented the highest index of inadequacy (75%). Contamination was observed in the water used to prepare the food, a high presence of mesophiles on the counters, boards and a knife for cutting meat. In relation to food, 100% of the UEI presented Coagulase positive *Staphylococcus* counts. Of the 180 food samples, 96 (53.3%) were confirmed by *S. aureus* by PCR. Of these, 62 (64.6%) presented genes for the production of staphylococcal enterotoxins. The percentage of resistance to oxacillin and/or cefoxitin was observed in 100% of *S. aureus* isolates. The analyzed UEI present inadequacies that directly affect the health of more than 1,800 preschool children enrolled in exposure to contact with antibiotic-resistant bacteria, such as Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Keywords: school feeding, food handling, hygienic-sanitary quality, food safety.

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2

Gráfico 1	– Classificação das condições higiênico-sanitárias das UEI do município de Mossoró em 2018	37
Gráfico 2	– Porcentagem média de adequações e inadequações dos blocos analisados no <i>check-list</i> aplicado nas UEI	39

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

Quadro 1	–	Referências nutricionais estabelecidas pelo PNAE	20
Quadro 2	–	Perfil epidemiológico de Doenças Transmitidas por Alimentos no período de 2000 a 2017	26

CAPÍTULO 2

Quadro 1	–	Lista de alimentos de origem animal que compõem o cardápio mensal das UEI	35
----------	---	---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1	–	Variação mínima e máxima de coliformes a 35°C e 45°C nas amostras de água das UEI	39
Tabela 2	–	Variação mínima e máxima de coliformes a 45°C, mesófilos e <i>Staphylococcus</i> spp. nas amostras de carne bovina, frango e leite em pó	40

CAPÍTULO 3

Tabela 1	–	Oligonucleotídeos para identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Tabela 2	–	Oligonucleotídeos para identificação dos genes de virulência de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Tabela 3	–	Quantidade de isolados de SCP por método convencional e PCR do gene nuc	52
Tabela 4	–	Perfil de <i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina (MRSA)	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
UAN	Unidade de Alimentação e Nutrição
UEI	Unidade de Educação Infantil
PNAE	Programa Nacional de Alimentação Escolar
FNDE	Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação
EEX	Entidades Executoras
CAE	Conselho de Alimentação Escolar
BPF	Boas Práticas de Fabricação
SIF	Selo de Inspeção Federal
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
UHT	Ultra High Temperature
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
MBPF	Manual de Boas Práticas de Fabricação
POP	Procedimento Operacional Padrão
ANVISA	Agência de Vigilância Sanitária
Aa	Atividade de água
pH	Potencial Hidrogeniônico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva
PCR	Reação da Cadeia Polimerase
SE	<i>Staphylococcus</i> Enterotoxin (Enterotoxina Estafilocócica)
BP	Baird-Parker
BHI	Brain Head Infusion
µL	Microlitro
bp	Pares de base
ATCC	American Type Culture Collection
OMS	Organização Mundial de Saúde
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
PLP	Proteína Ligadora de Penicilina

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Copyright
®	Marca registrada
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	16
1.1 INTRODUÇÃO	17
1.2 OBJETIVOS	19
1.2.1 Objetivo geral	19
1.2.2 Objetivos específicos	19
1.3 REVISÃO DE LITERATURA	20
1.3.1 O programa nacional de alimentação escolar	20
1.3.2 Aquisição e armazenamento dos alimentos	21
1.3.3 Estratégias para tentar garantir a segurança higiênico-sanitária dos alimentos	22
1.3.4 Alterações que podem ocorrer nos alimentos	23
1.3.5 Os perigos em alimentos	25
1.3.5.1 Doenças Transmitidas por Alimentos	25
1.3.6 Higiene na preparação de alimentos	26
REFERÊNCIAS	
 2 CAPÍTULO 2 – QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS ALIMENTOS NA FASE DE PRÉ-PREPARO E CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS EM COZINHAS DE UEI	 31
2.1 RESUMO	32
2.2 INTRODUÇÃO	33
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.4 RESULTADOS.....	36
2.5 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	
 3 CAPÍTULO 3 – IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> EM ALIMENTOS DE UEI	 46
3.1 RESUMO	47
3.2 INTRODUÇÃO	48
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.4 RESULTADOS	51
3.5 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	
 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	 62
 ANEXOS	

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 INTRODUÇÃO

A alimentação é um fator que exerce grande influência sobre o ser humano, principalmente com relação a sua saúde, longevidade, seus aspectos físicos e capacidade de realizar suas atividades diárias (CARNEIRO, 2003). É na infância que se aprende a comer e para se alimentar de forma adequada é necessário conhecer os alimentos, a importância de cada um, isso corresponde à educação alimentar (VITOLLO, 2015).

Nessa perspectiva a escola torna-se um local ideal para contribuir na construção de hábitos alimentares saudáveis que irão repercutir na vida adulta (BRASIL, 2011). No Brasil, a alimentação escolar faz parte da rede de ensino e alcança uma grande parcela das crianças e adolescentes. Uma vez bem planejada, as refeições consumidas na escola podem oferecer aos estudantes a oportunidade de consumir alimentos de qualidade e saudáveis (BRASIL, 2015).

Para garantir essa qualidade é fundamental pensar na segurança desses alimentos, estes devem atender as exigências legais para consumo seguro e contribuir para melhorar a saúde ao consumidor (BRASIL, 2013). O conceito de alimentos seguros é definido como um conjunto de princípios, políticas, medidas e instrumentos que objetivam não só uma vida saudável, engloba o direito da cidadania em relação ao acesso permanente das pessoas aos alimentos, com preços adequados, em quantidade e qualidade que atendam também as exigências nutricionais (PIRAGINE, 2005).

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) podem ter origem desde a matéria-prima até a distribuição, desde que haja presença de qualquer componente vivo ou não, que seja estranho a natureza do alimento em questão e que possa causar danos à saúde quando consumidos por seres humanos (BRASIL, 2018).

Desde que o produto sai do seu local de origem até o consumo final, a responsabilidade em manter o controle microbiológico é dos indivíduos envolvidos com a etapa da cadeia que ele se encontra (CHAPAVAL e ALVES, 2006).

Quando os alimentos são contaminados por algum microrganismo, devem ser aplicadas medidas de controle, como: remoção, inibição da multiplicação ou destruição, o protocolo varia conforme a sensibilidade deste microrganismo a ser controlado e da própria natureza do produto (BRASIL, 2013). O problema surge quando essas medidas corretivas não são eficientes e eficazes, o objetivo do controle microbiológico é a detecção destes erros, sua correção e prevenção (MAGNANI e SILVA, 2007).

Existem estratégias desenvolvidas pelo programa de segurança alimentar para controlar os perigos microbiológicos dos alimentos no intuito de evitar deficiências inerentes da inspeção

de alimentos sem depender exclusivamente da espera da análise microbiológica (BRASIL, 1997). A consequência disso tem impacto no custo/benefício que pode auxiliar na segurança da qualidade nas refeições servidas nas Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) e até mesmo na alimentação escolar (BRASIL, 2004).

Com base nisso, surge à preocupação com a produção desta alimentação escolar de qualidade e segura por meio da investigação sobre a noção higiênico-sanitária na manipulação dos alimentos que serão preparados e servidos aos pré-escolares da rede municipal de ensino do município de Mossoró/RN.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar as condições higiênico-sanitárias e a qualidade microbiológica dos alimentos de origem animal, na fase de pré-preparo, presentes no cardápio das UEI do município de Mossoró-RN atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE).

1.2.2 Objetivos específicos

- Aplicar um *check-list* para avaliar as condições higiênico-sanitárias das UEI do município de Mossoró-RN atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE);
- Classificar as UEI do município de Mossoró-RN atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) em níveis de risco sanitário;
- Avaliar a qualidade microbiológica de equipamentos e utensílios, alimentos de origem animal e água das cozinhas das UEI do município de Mossoró-RN atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE).;
- Identificar e caracterizar por meio de PCR cepas de *Staphylococcus aureus* em alimentos de origem animal de UEI do município de Mossoró-RN;
- Detectar genes para produção de enterotoxinas estafilocócica: *SEA*, *SEB*, *SEC*, *SEE*, *SEG*, *SEH*, *SEI* e *SEJ* e caracterizar a resistência a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus*.

1.3 REVISÃO DE LITERATURA

1.3.1 O programa nacional de alimentação escolar (PNAE)

O PNAE atende os alunos matriculados na educação básica pública que compreende: educação infantil (creche e pré-escola), ensino fundamental e médio, educação de jovens e adultos (EJA), indígenas, quilombolas e aqueles matriculados no atendimento educacional especializado. O objetivo é formar práticas alimentares saudáveis através da educação alimentar e nutricional por meio da oferta de refeições que atendam às necessidades nutricionais (QUADRO 1) dos estudantes enquanto estão na escola (BRASIL, 2015).

QUADRO 1 - REFERÊNCIAS NUTRICIONAIS ESTABELECIDAS PELO PNAE

Refeições servidas	Necessidade nutricional diária mínima	Tipo de escola
Apenas uma refeição	20%	Creches, pré-escola e ensino fundamental, em período parcial
Duas ou mais refeições	30%	Creches, pré-escola e ensino fundamental, em período parcial
Cada refeição servida	30%	Escolas indígenas e localizadas em áreas remanescentes de quilombos
Período integral	70%	Creches, pré-escola, ensino fundamental, escolas indígenas e localizadas em áreas remanescentes de quilombos

Fonte: Adaptado de Brasil (2009).

Os recursos utilizados para execução do PNAE são organizados por meio da parceria entre o Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE), pelas Entidades Executoras (EEx), Conselho de Alimentação Escolar (CAE) e pelos órgãos de controle interno (Controladoria Geral da União – CGU) e de controle externo (Tribunal de Contas da União – TCU e Ministério Público – MP). O valor do recurso é calculado pelo censo de alunos do ano anterior e repassado em 10 parcelas, devendo ter uso exclusivo à aquisição dos gêneros para alimentação escolar. A gestão dos recursos pelas EEx pode ser centralizada, descentralizada e semicentralizada. A prestação de contas do recurso deve ser apresentada pela EEx ao FNDE periodicamente (BRASIL, 2015).

Os Centros Colaboradores de Alimentação e Nutrição do Escolar buscam favorecer o desenvolvimento e aplicação de medidas que comprovem e garantam a adoção de práticas alimentares mais saudáveis no âmbito escolar, por meio do apoio técnico e operacional aos estados e municípios, incluindo a formação dos envolvidos com o PNAE (BRASIL, 2006).

1.3.2 Estratégias para garantir a segurança higiênico-sanitárias na aquisição dos alimentos nas UEI

A qualidade da matéria-prima, a arquitetura dos equipamentos e das instalações, as condições higiênicas do ambiente de trabalho, as técnicas de manipulação dos alimentos, a saúde dos funcionários são fatores importantes a serem considerados na produção de alimentos seguros e de qualidade (ARAGÃO, 2007).

Esses fatores isolados ou combinados quando não são supervisionadas e aplicadas as Boas Práticas de Fabricação (BPF) contribuem para que os alimentos adquiram, em geral, uma grande carga microbiana responsável pela deterioração e/ou a redução da vida de prateleira, além de aumentar o risco de serem veículos de patógenos (OLIVEIRA et al., 2010).

O controle do crescimento de microrganismo se dá a partir de métodos desenvolvidos por cientistas, um dos mais conhecidos é a esterilização que consiste na remoção total de qualquer forma de vida dos microrganismos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2010).

O segredo para produzir alimentos seguros é torná-los microbiologicamente estáveis, ou seja, estar certificado de que nenhum microrganismo dos alimentos irá se multiplicar até níveis prejudiciais ao consumo humano. O modo ideal é inativá-los e garantir que não haja produção de toxinas (FORSYTHE, 2002).

A carne, por exemplo, pode ser vendida por meio de cortes ou ser moída nos estabelecimentos e comercializada, desde que devidamente embalada, a carne moída por necessitar de maior manipulação, está mais suscetível à deterioração microbiana e conseqüentemente menor vida de prateleira, recomenda-se que haja inspeção para todos os alimentos adquiridos (TOMICICH et al., 2005).

No armazenamento, recomenda-se utilizar o controle da temperatura além do cuidado na manipulação, a fim de prevenir o crescimento de microrganismos e retardar as reações químicas e bioquímicas que afetam a qualidade e as características organolépticas do alimento (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

As carnes de aves quando adquiridas em supermercados chegam embaladas, resfriadas ou congeladas, inteiras ou em pedaços. Uma carne de ave fresca apresenta pele clara, cor homogênea e consistência elástica, pele úmida, mas não molhada. Aves congeladas devem ter embalagens intactas e fechadas sem cristais de gelo ou descoloração. (ARAÚJO et al., 2008).

Para adquirir leite, deve-se verificar o prazo de validade em todos os tipos, além do local de venda sob refrigeração se for pasteurizado, latas limpas, não amassadas, sem ferrugem ou

vazamentos se for em pó e embalagens limpas e sem vazamentos se for *Ultra High Temperature* (UHT) (ARAÚJO et al., 2008).

Os tratamentos que envolvem o leite e os efeitos que causa nos nutrientes normalmente utilizam o calor com intuito de inativar microrganismos patogênicos não esporulados e a redução da microbiota presente, sem alterar consideravelmente a natureza físico-química e as características organolépticas e nutritivas (POLEGATO; RUDGE, 2003).

Além de se preocupar com os aspectos nutricionais, é pertinente estar atento às condições nas quais os alimentos estão sendo produzidos e servidos às crianças, pois na população infantil, há maior risco de infecções intestinais (LIMA et al., 2000).

Desde muito tempo os profissionais da saúde, como nutricionistas, preocupam-se em estudar a origem das doenças alimentares, principalmente decorrentes da ingestão de alimentos contaminados com toxinas de bactérias e, para isto, as mudanças nos procedimentos de controle higiênico-sanitário são constantes (SILVA JÚNIOR et al., 2005).

1.3.3 Boas Práticas de Fabricação

A busca pela qualidade dos alimentos está sempre em ascensão, não se procura adquirir o produto apenas para suprir as necessidades calóricas diárias, antes disso, é exigida qualidade higiênica, sanitária e tecnológica dos alimentos (BRASIL, 2007).

Segurança de alimentos é o termo usado para se referir à prática de medidas que permitam o controle da entrada de qualquer agente que promova risco à saúde ou integridade física do consumidor. Portanto, ela é consequência do controle de todas as etapas da cadeia produtiva, desde o campo até a mesa do consumidor (BRASIL, 2013).

Para garantir a produção de alimentos de qualidade, foi estabelecido um conjunto de normas e procedimentos que necessitam ser adotados chamados de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e aborda aspectos desde a obtenção adequada da matéria-prima até o seu consumo, além da possibilidade de reduzir as contaminações microbiológicas, que por sua vez causam impacto direto na qualidade, industrialização e no tempo de prateleira dos alimentos, podendo colocar em risco a saúde do consumidor (CHAPAVAL; ALVES, 2006).

Uma das ações primordiais nesse sistema é a inspeção de alimentos, que é caracterizada por Kindlein, Lassen e Ferreira (2014) como “ação de examinar, buscando sempre situações anormais que, de alguma maneira, condicionem ou impeçam que o produto ou matéria-prima sejam aproveitados para o consumo humano”.

O Manual de Boas Práticas de Fabricação (MBPF) e os Procedimentos Operacionais Padrão (POP), são ferramentas de suma importância para a gestão de segurança alimentar. Nesses documentos são descritas atividades e procedimentos como: produção, manipulação, transporte, armazenamento e/ou comercialização de alimentos, que as UAN devem adotar para garantir que os alimentos produzidos tenham segurança e qualidade sanitária aos seus consumidores e para atender a legislação sanitária federal em vigor, Portaria MS nº 1428/93, Portaria MS nº 326/97 – (MBPF) e RDC ANVISA nº 275/02 – (POP) (BRASIL, 1993; BRASIL, 1997; BRASIL, 2002).

As BPF visam garantir a qualidade e a segurança dos alimentos, estão de acordo com a legislação vigente e abrangem cinco pontos principais chamados de POP, estes procedimentos são: controle de água e reservatórios, higiene das instalações físicas, higiene do manipulador, controle de vetores e pragas e higiene de equipamentos e utensílios (MONÇALVES e AZEVEDO, 2013).

A RDC 216 de 15/09/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é uma ferramenta que permite fazer uma avaliação preliminar das condições higiênico-sanitárias de um estabelecimento de produção de alimentos. Os requisitos avaliados são relativos a recursos humanos; condições ambientais; instalações, edificações e saneamento; equipamentos; sanitização; produção; embalagem e rotulagem; controle de qualidade e controle no mercado (BRASIL, 2004).

A implantação das BPF oferece vantagens que vão desde a melhoria da organização interna, passando pela detecção e correção de erros existentes, qualidade do trabalho, além de ser um sistema preventivo com intuito de garantir a qualidade e a segurança dos alimentos atendendo a legislação brasileira (MONÇALVES e AZEVEDO, 2013).

1.3.4 Alterações que podem ocorrer nos alimentos

O principal fator que influencia diretamente na proliferação bacteriana é a oferta de nutrientes, a temperatura, pH, disponibilidade de oxigênio (potencial oxirredução) e a quantidade de água (Aa), irão definir quais bactérias estão colonizando determinado meio (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

Entre os alimentos, os de origem animal, são muito susceptíveis ao crescimento de microrganismos devido a um conjunto de características intrínsecas desses alimentos que facilitam ou dificultam a contaminação. A exemplo de fatores físicos estão a temperatura, potencial hidrogeniônico (pH) e pressão osmótica, e de fatores químicos, as fontes de carbono,

nitrogênio, enxofre, fósforo, oxigênio, elementos traço e fatores orgânicos de crescimento (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As bactérias deteriorantes, na maioria das vezes, não se multiplicam em alimentos com Aa inferior a 0,91, já os fungos são menos exigentes, podem fazê-lo até 0,80. Uma das bactérias mais comuns causadoras de toxinfecções alimentares é o *Staphylococcus aureus*, essa bactéria pode tolerar uma Aa até 0,86 para sua multiplicação, contudo não produz toxinas nessa concentração (CARVALHO, 2010).

Nas carnes, peixes, leites e ovos, o conteúdo de água, que é o valor total de água do alimento, varia entre 70% e 95%. Em teoria se poderia dizer que a velocidade de deterioração desses alimentos poderia ser a mesma, porém é necessário analisar as propriedades e distribuição dessa água e ainda em que grau ela favorece o crescimento microbiológico, as reações químicas e enzimáticas em cada alimento (ARAÚJO et al., 2008).

Nos alimentos a água é componente mais importante, pois ela é veículo para as reações químicas e bioquímicas, além de que sua presença é fundamental para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos. A preservação de um alimento, consistência, aspecto e cor são variantes de acordo com a quantidade de água presente nele (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As reações de deterioração em alimentos do ponto de vista microbiológico podem ser classificadas de acordo com a Aa: elevada ($> 0,85$) leite, carne, ovos (alimentos perecíveis), intermediária ($0,6 < 0,85$) embutidos de carnes, pescado seco ou defumado e baixa ($< 0,6$) mel (ARAÚJO et al., 2008; WELTI; VERGARA, 1997).

As reações bioquímicas são mediadas por enzimas, uma reação indesejável na manipulação de alimentos é o escurecimento enzimático onde as enzimas oxidam compostos como ácidos ou substâncias fenólicas produzindo um composto escuro. Para se evitar essa reação podem-se inativar essas enzimas ou remover o oxigênio, ou ainda combinar esses dois métodos (ARAÚJO et al., 2008).

O armazenamento sob refrigeração tem função de proteção dos produtos dos fenômenos oxidativos, aumentando consequentemente a vida de prateleira. As carnes vermelhas, de aves, de pescados, congelados inteiros ou em porções podem apresentar diferentes tempos de vida de prateleira. Produtos resultantes da oxidação de ácidos graxos e colesterol sob o aspecto de saúde pública pode promover desde irritação da mucosa intestinal, diarreia, degeneração hepática, até a morte celular (FABBI et al., 2011).

Nos lipídios a mais importante reação de degradação é a rancificação, que pode ser hidrolítica que ocorre durante o processamento e o armazenamento de natureza química, autolítica ou microbiana, ou oxidativa que acontece em temperatura ambiente pelos processos auto-oxidativos, fotooxidativo e enzimático. Em ambas a formação de compostos que podem ser indesejáveis como compostos tóxicos, polímero e compostos cíclicos (ARAÚJO et al., 2008).

1.3.5 Doenças Veiculadas por Alimentos

A ingestão de alimentos contaminados pode causar doenças como infecção, intoxicação ou toxinfecção alimentar, de modo geral essas doenças apresentam sintomas como mal-estar, dores estomacais, diarreia, êmese e náuseas (FORSYTHE, 2002).

O perigo em alimentos normalmente está associado às precárias condições de higiene a exemplo: os riscos físicos que envolvem contaminação por meio de materiais sólidos como fibras de plástico, vidro; os riscos químicos por meio da contaminação com resíduos de substâncias tóxicas; e os riscos biológico relacionado a contaminação com vírus, bactérias, parasitas (HOBBS, 1998).

Além dos alimentos, a água contaminada também merece destaque pela sua importância na produção destes. O perigo da água está envolvido com os problemas com saneamento básico, pois o tratamento da água é fundamental para garantir as condições de potabilidade (VON SPERLING, 2005).

A contaminação causada por microrganismos nos alimentos tem origem em decorrência de más práticas de manipulação dos alimentos adotadas pela população em geral (VIEGAS et al., 2018). Isto desperta atenção principalmente pelos elevados índices de doenças veiculadas por alimentos crus, mal preparados e mal conservados (EMBRAPA, 2006).

Uma das causas mais frequentes de surtos causados por DTA é a contaminação cruzada, que incide com a transferência de determinado tipo(s) de microrganismo(s) de um alimento cru para um pronto para consumo ou entre alimentos e utensílios (TONDO e BARTZ, 2011).

Essa contaminação pode acontecer por diferentes formas como: utensílios, superfícies e equipamentos não higienizados de maneira adequada, a negligência num determinado momento das tarefas pode tornar um alimento ou um utensílio em um potencial contaminante de outro (BASTOS, 2008).

Conforme dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) da Secretaria de Vigilância Sanitária, entre o período de 2000 a 2017 o ano de 2005 o Brasil o que teve o maior número de surtos alimentares por DTA chegando a 923 casos (BRASIL, 2016).

Neste mesmo período, o número de doentes por DTA chegou a 236.403 pessoas, destes 7,82% são crianças de 1 a 4 anos de idade. Dos alimentos incriminados 12% são produtos de origem animal (BRASIL, 2018), conforme o Quadro 2.

QUADRO 2 - PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS NO PERÍODO DE 2000 A 2017*

Variáveis estudadas		Porcentagem
Local inicial da ocorrência	Creches e escolas	8,6%
Região	Nordeste	15,9%
Alimentos incriminados	Ignorado	46,82%
	Ovos e produtos à base de ovos	7,36%
	Água	6,16%
	Inconclusivo	3,32%
	Leite e derivados	3,21%
	Carne bovina <i>in natura</i> , processados e miúdos	2,39%
	Carne de aves <i>in natura</i> , processados e miúdos	1,80%
	Pescados, frutos do mar e processados	0,84%
	Carne suína <i>in natura</i> , processados e miúdos	0,82%
Microrganismos envolvidos	<i>Salmonella</i>	31%
	<i>Escherichia coli</i>	24%
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16%
	Coliformes	6%
Fatores	Matéria-prima imprópria (n=4.960)	20%
	Conservação inadequada (n=5.032)	35%
	Manipulação e preparação (n=5.058)	40%

Fonte: Adaptado de Brasil (2018).

* Dados referentes até junho de 2017

1.3.6 Higiene de equipamentos e utensílios

As condições higiênico-sanitárias nas quais os alimentos são expostos e preparados fazem parte da qualidade desse alimento e o manipulador interfere diretamente nesse aspecto em qualquer fase de elaboração. Alimentos em condição de risco se deterioram mais rápido, principalmente quando submetidos à conservação inadequada (SILVA JÚNIOR et al., 2005).

Ao manipular um alimento os microrganismos disseminam-se e contaminam equipamentos e utensílios. As oportunidades necessárias para a proliferação de microrganismos em sua maioria estão relacionadas aos ambientes nos quais os processos acontecem, pois a limpeza e desinfecção inadequada destas superfícies representam um risco de contaminação (BRASIL, 2004).

O ambiente de uma UAN favorece a proliferação de microrganismo, por possuir condições favoráveis de crescimento como: água, pH, oxigênio, nutrientes e temperatura. Para que isso não seja favorecido é necessário ampliar o conceito de higiene tanto pessoal dos manipuladores quanto de utensílios, equipamentos, superfícies, piso, paredes, janelas e portas (BASTOS, 2008).

Nesse contexto, é despertada a atenção para segurança alimentar nas escolas, pois diariamente as crianças são expostas a ingestão de alimentos nos ambientes de ensino, neste caso, principalmente as pré-escolares, que compreende a faixa etária de 2 a 4 anos e que realizam no mínimo duas refeições nas UEI.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, I. K. M. B. **Irregularidades observadas no cumprimento das boas práticas em restaurantes “self service” na região do grande Méier**. Dissertação. Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Pró- Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – Universidade Castelo Branco – UNB. Rio de Janeiro - RJ, 2007.
- ARAÚJO, W. M. C. et al. **Alquimia dos alimentos**. 2ª ed. Brasília, DF: Editora SENAI. 2008.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**, v. 3, São Paulo: Atheneu, 1998. 317 p.
- BASTOS, C. C. B. **Condições higiênico-sanitárias no preparo de refeições em creches comunitárias de Belo Horizonte**, Minas Gerais. Belo Horizonte: UFMG, 2008. 15 p.
- BRASIL. **Alimentação saudável e sustentável**. Brasília: Universidade de Brasília, 2007.
- BRASIL. **Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes**. Brasília: ANVISA, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/ industrializadores de alimentos. **Diário Oficial [da] da República Federativa do Brasil**, Brasília, 06 de novembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <<http://dab.saude.gov.br/portaldab/pnan.php>> Acesso em: 10 out. 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Brasília: SINAN, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 1428 de 26 de novembro de 1993. Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 dez. 1993.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 326 de 30 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico: condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1 ago. 1997.
- BRASIL. **Profucionário**: curso técnico de formação para os funcionários da educação. Brasília: Centro de Educação A Distância – Cead, 2006.
- BRASIL. **Referências Nutricionais para o Programa Nacional de Alimentação Escolar**: Documento Final referente ao Grupo de Trabalho revisado pelo Centro de Referência. Brasília: FNDE, 2009.

BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE). **Cartilha nacional da alimentação escolar**. 2. ed. Brasília, DF, 2015. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/programas/pnae/pnae-area-para-gestores/pnae-manuais-cartilhas/item/6820-cartilha-pnae-2015>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

CARNEIRO, Henrique. **Comida e sociedade: Uma história da alimentação**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2003.

CHAPAVAL, L.; ALVES, FSF. Boas práticas agropecuárias e sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle como ferramentas para produção de leite de cabra com qualidade. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

EMBRAPA. **Qualidade microbiológica de salames tipo colonial comercializados na cidade de Concórdia/SC: Análise de *Staphylococcus aureus* e *Toxoplasma gondii***. Comunicado técnico. ISSN 0100-8862. Concórdia. Dezembro. 2006.

FABBI, L. M. et al. **Avaliação da qualidade microbiológica de produtos de origem animal em pequenas agroindústrias da região oeste do estado de Santa Catarina**. Florianópolis: SENAI, 2011.

FORSYTHE, Stephen, **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre, Artmed, 2002, p.85.

HOBBS, B.C. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. São Paulo: Varela, 1998.

LIMA, A. A. M. et al. Persistent diarrhea signals a critical period of increased diarrhea burdens and nutritional shortfalls: a prospective cohort study among children in northeastern Brazil. **The Journal of infectious diseases**, v. 181, n. 5, p. 1643-1651, 2000.

MAGNANI, A. L. SILVA, J. Departamento Regional de Santa Catarina. **Fundamento para análise de perigos e riscos**; Florianópolis: SENAI/ SC. 2007. 158 p.

MONÇALVES, V. A.; AZEVEDO, M. L. **Boas Práticas de Fabricação em Agroindústrias**. 2013.

OLIVEIRA, K. A. et al. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 435-440, 2010.

PIRAGINE, K. O. Aspectos Higiênicos e Sanitários do Preparo da Merenda Escolar na Rede Estadual de Ensino de Curitiba. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, 2005.

POLEGATO, E. P. S.; RUDGE, A. C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília – São Paulo/ Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.

SILVA JÚNIOR, et al. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. Varela, 2005.

TOMIC, R. G. P. et al. Metodologias para avaliação de boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. p. 115-120. 2005.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. **Microbiologia e sistemas de gestão da segurança de alimentos**. Porto Alegre: Sulina, 2011.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, CL. **Microbiologia**. 10. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

VITOLO, Márcia Regina. **Nutrição**: da gestação ao envelhecimento. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2015. 568 p.

VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: UFMG, 2005. 243 p.

**2 CAPÍTULO 2 – QUALIDADE DOS ALIMENTOS NA FASE DE PRÉ-PREPARO E
AS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS EM COZINHAS DE UNIDADES DE
EDUCAÇÃO INFANTIL**

RESUMO

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo avaliar as condições de processamento das cozinhas de Unidades de Educação Infantil (UEI), assim como analisar as características microbiológicas dos alimentos na fase de pré-preparo (crus). Para isso, selecionou-se 30% das UEI (n=12). Após a permissão da Secretaria de Educação municipal realizou-se três visitas as UEI: a primeira para explicar a proposta do trabalho, a segunda em um dia sem aviso prévio para aplicação do *check-list* e coleta das amostras (carne bovina, frango, leite em pó, água, suabes de bancada, faca de corte de carnes e tábua de carne), totalizando 84 amostras, e a terceira para divulgação dos resultados e sugestões de melhorias. As análises microbiológicas realizadas foram: coliformes a 35°C e 45°C, mesófilos, *Staphylococcus* spp. e *Salmonella* spp. nas amostras de alimentos e nos suabes de equipamentos e utensílios: coliformes a 35°C e 45°C e mesófilos. No momento do diagnóstico foram observadas 75% de inconformidades quanto aos hábitos dos manipuladores. Foram encontradas presença de coliformes a 45°C em 25% nas amostras de água. Nas bancadas, tábuas e facas de corte de carnes verificou-se contagem de mesófilos superiores a 7 log UFC/ml em 100% das amostras. A carne bovina se destacou dos demais alimentos apresentando 100% de amostras com contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva acima do estabelecido na legislação. Não foi evidenciada presença de *Salmonella* spp. Com os resultados encontrados demonstra-se que devem haver intervenções mais eficientes e eficazes principalmente no comportamento dos manipuladores, fiscalização por meio da gestão e melhorias na estrutura física, além da implantação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) para propiciar melhorias na qualidade dos produtos finais distribuídos aos pré-escolares.

Palavras-chave: alimentação infantil, boas práticas, segurança alimentar.

2.2 INTRODUÇÃO

A infância é uma fase da vida na qual há a formação dos hábitos alimentares e onde o crescimento e desenvolvimento estão diretamente ligados a nutrição, essa por sua vez constitui-se num fator de prevenção de algumas doenças (SANTOS FILHA et al, 2012).

A ideia de oferecer merenda nas escolas no Brasil surgiu na década de 40 e passou por muitos aprimoramentos até se tornar o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) (BRASIL, 2017). O PNAE tem objetivo de fornecer alimentação nas escolas públicas possibilitando melhora na saúde de crianças e adolescentes, por meio da oferta de alimentos nutritivos e com qualidade (MARTINS, 2018).

Provavelmente devido a maior fragilidade imunológica os escolares estão mais susceptíveis a adoecerem, o ambiente escolar e de creches ocupa o segundo lugar com maior notificação de surtos alimentares (14,7%) no Brasil, apresentando média de 20,8 casos por surto e taxa de internação de 14,7 crianças (FAÚLA, SOARES e DIAS, 2017).

Dentre os alimentos apontados como causadores de DTA estão a água, as carnes e seus derivados e leite e seus derivados, na maioria dos casos os microrganismos envolvidos são a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* spp. (BRASIL, 2015).

Os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e as Boas Práticas de Fabricação (BPF) têm papel fundamental na garantia da alimentação de qualidade e da segurança dos alimentos oferecidos, evitando a contaminação dos alimentos prevenindo as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (BRASIL, 2004).

Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos de origem animal na fase de pré-preparo e as condições higiênico-sanitárias das Unidades de Educação Infantil (UEI) do município do Rio Grande do Norte atendidas pelo PNAE.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Local, população e amostra da pesquisa

O estudo foi realizado no município de Mossoró, localizado no oeste do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Foi conduzido nas UEI do município atendidas pelo PNAE. O município possui 37 UEI localizadas entre a zona urbana e a rural da cidade. Para definir o tamanho da amostra optou-se por selecionar 30% (n=12) das UEI, as UEI analisadas deveriam

ter o seguinte perfil: distribuição de alimentação escolar duas vezes a cada turno; atender em média 150 alunos da educação infantil inscritos no PNAE; se localizar na região urbana do município. A metodologia de seleção utilizada foi um sorteio.

O estudo teve caráter observacional e descritivo, todas as escolas que compuseram a amostra foram visitadas três vezes. A primeira visita se deu antes de iniciar a pesquisa para que se tivesse conhecimento da estrutura e funcionamento da unidade, foi explanada à direção das UEI a necessidade da aplicação do *check-list* e das análises microbiológicas dos alimentos de origem animal servidos na unidade e de algumas superfícies de equipamentos e utensílios utilizados na cozinha e da água utilizada na preparação dos alimentos.

A segunda visita foi realizada sem aviso prévio para que fosse aplicada a metodologia de coleta de dados. A terceira visita foi apenas para apresentar os resultados. Todas as visitas aconteceram mediante a autorização da Secretaria de Educação do município.

2.3.2 Check-list

A coleta de dados se deu em cada UEI, onde aplicou-se o *check-list* baseado na RDC 216 de 2004, RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002 recomendados pela ANVISA e no *check-list* do Conselho de Alimentação Escolar (CAE) (Anexo 1).

O *check-list* foi aplicado durante a segunda visita com o intuito de verificar as condições de higiene pessoal dos manipuladores, as condições físicas da cozinha da UEI, as condições dos equipamentos e utensílios, as condições de higiene operacional na produção da alimentação escolar e as condições de processamento dos alimentos oferecidos na alimentação escolar.

Apenas uma resposta foi atribuída para cada item avaliado, “conforme”, “não conforme” e “não se aplica”. O valor zero foi atribuído para todas as respostas “não conforme” e “não se aplica”, considerando em “não conformidade” com o item avaliado.

Esse instrumento de avaliação foi dividido em quatro campos: A – identificação da escola; B – avaliação; C – pontuação da escola; e D – observações.

Para o cálculo da pontuação da escola, foi atribuída uma porcentagem referente ao impacto que cada bloco da avaliação teria na qualidade higiênico-sanitária na preparação da alimentação. O bloco 1 - edificações e instalações: 10% (n=33 critérios), bloco 2 - equipamentos e utensílios: 15% (n=9 critérios), bloco 3 - manipuladores/merendeiras: 40% (n=12 critérios) e bloco 4 - preparo da merenda escolar: 35% (n=22 critérios).

O percentual de adequação geral calcula-se utilizando a equação a seguir: adequação geral (%) = (total de itens adequados ÷ total de itens) x 100. A classificação de conformidade das UEI segue a indicação da RDC 275/2002: grupo 1 – 76 a 100% (boa), grupo 2 – 51 a 75% (regular) e grupo 3 – 0 a 50% (ruim).

2.3.3 Amostras

Foram coletados alimentos de origem animal: 12 amostras de frango, 12 amostras de carne bovina e 12 amostras de leite em pó. As UEI não recebem o fornecimento de leite pasteurizado e nem UHT. A coleta se deu com o alimento cru, no caso do leite, coletou-se reconstituído.

Com intuito de não intervir na rotina de produção das refeições, era solicitado que o manipulador reconstituísse o leite da forma que era feito diariamente, após reconstituição a amostra era armazenada em uma garrafa estéril e acondicionada em uma caixa térmica e transportados para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA).

Para coletar a carne bovina e frango, solicitava-se ao manipulador que realizasse o procedimento de descongelamento e em seguida coletava-se uma amostra do alimento, armazenava-se em um saco estéril e eram acondicionadas em uma caixa térmica e transportados para o LIPOA.

A escolha das amostras a serem coletadas foi de acordo com o cardápio do dia (QUADRO 1), todas as UEI possuíam e seguiam o mesmo cardápio produzido pelas nutricionistas do município. Foram coletados três alimentos de origem animal por UEI, sendo os mesmos coletados em todas as unidades. Também foi coletada amostra da água dos reservatórios destinada à preparação da alimentação, a amostra era armazenada numa garrafa estéril e acondicionada em uma caixa térmica e transportados para o LIPOA.

QUADRO 1 - LISTA DOS ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL QUE COMPÕEM O CARDÁPIO MENSAL DAS UEI

Alimento	Horário
Leite	Desjejum – 07h30min
Carne bovina	Almoço – 10h30min
Frango	Almoço – 10h30min

Fonte: Adaptado Prefeitura Municipal de Mossoró, Secretaria Municipal de Educação, Esporte e Lazer, Setor de Alimentação Escolar, Cardápio de 2017 (2017).

Os equipamentos e utensílios analisados foram: tábua de corte de carnes, bancada onde se manipulavam os alimentos e a faca de corte de carnes, estes foram escolhidos por serem utilizados diariamente nas UEI. Para análise realizou-se suabes de superfície numa área 100cm² que era delimitada por um quadrado de papel estéril e descartável. Já nos utensílios o suabe era passado em toda área. Os suabes eram armazenados em água peptonada dentro de tubos de ensaio individuais e acondicionados em caixas térmicas e transportados para o LIPOA.

2.3.4 Análise microbiológica das amostras

As análises microbiológicas das amostras de alimentos, de água, de superfícies e de equipamentos foram realizadas no LIPOA da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) no período de abril a junho de 2018.

Foram coletadas sete amostras por UEI para as análises microbiológicas, sendo estas: 1 de água (100ml), 1 de carne bovina (100g), 1 de frango(100g), 1 de leite(100ml), para análises de coliformes totais a 35° C e termotolerantes a 45° C, bactérias mesófilas, *Staphylococcus* spp. e pesquisa de *Salmonella* spp; 1 de tábua de corte de carnes, 1 de bancada e 1 de faca de corte de carnes, para análises de coliformes totais a 35° C e termotolerantes a 45° C, e bactérias mesófilas.

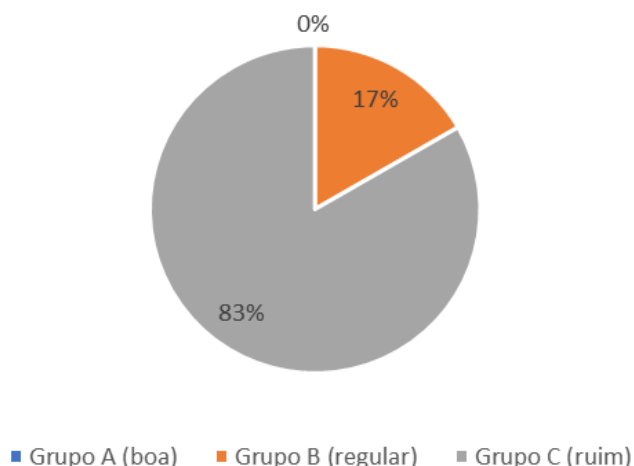
Todas as análises foram realizadas no LIPOA da UFERSA campus central e seguindo as orientações da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003) e no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, editado pela *American Public Health Associations* (APHA, 2001).

Os resultados foram comparados com a RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 que estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos e determina os critérios para a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológica de alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001). E para análise de água, foi seguida a Portaria nº 2.914, de 22 de dezembro de 2011 que dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2011).

2.4 RESULTADOS

Conforme análise do *check-list*, no município de Mossoró-RN 83,0% das UEI encontram-se em condições inadequadas quanto ao aspecto higiênico-sanitário e 17,0% encontram-se numa situação regular (Gráfico 1).

GRÁFICO 1. CLASSIFICAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS NAS UEI DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ-RN EM 2018



Fonte: Autor (2019)

A partir da aplicação do *check-list* para classificação higiênico-sanitária pode-se traçar o perfil geral das Unidades de Educação Infantil. O resultado médio está apresentado no gráfico 1. Um estudo semelhante realizado por Lopes et al. (2015) nas unidades de alimentação e nutrição de escolas públicas do município de Bayeux/PB, foi observado que grande parte das amostras (n=29) avaliadas foi classificada em risco alto ou muito alto, devido ao baixo atendimento as normas em relação as Boas Práticas na Alimentação Escolar e recomendam que sejam adotadas medidas corretivas nos serviços para garantir a segurança dos alimentos fornecidos.

Ao questionar nas cozinhas das UEI sobre o Manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF), muitos manipuladores desconheciam a existência desse documento.

As BPF são “um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos a fim de garantir a qualidade sanitária e conformidade dos produtos alimentícios com os regulamentos técnicos” (BRASIL, 2004). É de grande importância que em cada UEI haja um Manual de BPF e que os manipuladores sejam bem orientados considerando a necessidade de aplicar as BPF nas cozinhas com a finalidade de minimizar os riscos associados à manipulação de alimentos.

Silva et al. (2015) evidenciaram que nas seis escolas municipais de Itaqui/RS avaliadas em seu trabalho, 100% estavam com inadequação das condições higiênico-sanitárias, sendo todas classificadas como risco sanitário alto durante a pesquisa.

Um total de 76 critérios foram analisados nas Unidades de Educação Infantil estudadas (Gráfico 2). No diagnóstico observou-se não conformidades em 100% dos blocos analisados no *check-list*.

O bloco 1 – Edificações e instalações apresentou inadequação de 51,5% dos itens, a maioria das UEI não possuem uma área externa livre de focos de contaminação; o acesso ao armazenamento, refeitório e cozinha normalmente são comuns a outros usos, o mesmo destaca-se no estudo de Santos e Santos (2016) onde foi percebido a localização inadequada de equipamentos provocando um fluxo de produção que favorece a contaminação cruzada.

Martins e Rocha (2014) relatam que um dos obstáculos mais importantes do ponto de vista da infraestrutura é o *lay out* incorreto da cozinha. É muito importante que o profissional nutricionista atue na equipe de elaboração de plantas físicas e até mesmo na adequação do *lay out*, organizando um fluxo seguro de produção. Sant’ana (2012) afirma que se essa participação fosse obrigatória as DTAs ocasionadas por contaminação cruzada e manipulação inadequada poderiam ser reduzidas significativamente.

Observou-se também que os produtos destinados a higienização raramente são identificados e guardados em local adequado; em 100% das UEI não há controle de pragas; dificilmente se tem controle da higienização do reservatório de água e a distribuição dos alimentos nem sempre é realizada em local adequado.

O bloco 2 – Equipamentos e utensílios foi o que apresentou maior percentual de adequação (66,7%), o que difere do estudo realizado por Oliveira, Brasil e Taddei (2008) onde os equipamentos e utensílios analisados tinham 60% de inadequação nas cozinhas quanto ao seu funcionamento. Mostrando que se tem modificado a política de aquisição desses itens evitando, por exemplo, materiais como madeira, contudo se faz necessário a manutenção e renovação dos mesmos. Neste bloco os maiores problemas encontrados foram a respeito de sua utilização para os devidos fins; bancadas em quantidade insuficiente ou em precárias situações de conservação; utensílios com higienização inadequada.

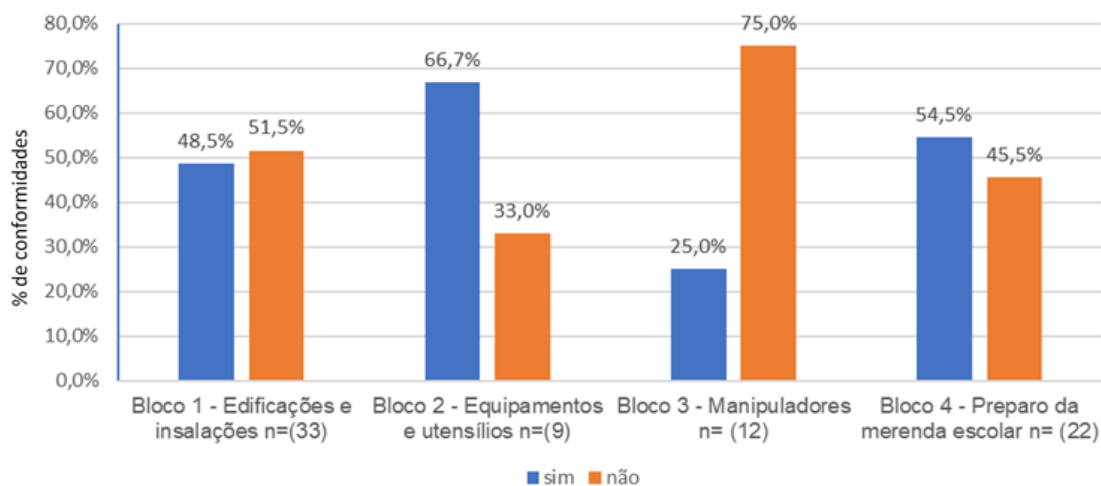
Em contrapartida, o bloco 3 – Manipuladores apresentou maior índice de inadequação (75%). Araújo et al (2018) observaram uma falta de frequência de treinamento de 71,4% em escolas no sul do Brasil. Silva et al (2016) apontaram um aumento 23,07% para 31,86% na higienização de instalações, equipamento, móveis e utensílios após sanar dúvidas sobre a

higienização adequada das condições higiênico-sanitárias de Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN). Recomenda-se que a gestão pública exija que hajam treinamentos periódicos dos manipuladores a fim de conscientizar sobre a importância de produzir alimentos seguros e de capacitar quanto as dúvidas recorrentes e inerentes às BPF.

Observou-se inadequação em 100% das UEI quanto ao item fardamento adequado à atividade e exclusivo pra área; os hábitos de higiene são constantemente negligenciados durante a rotina de manipulação dos alimentos, além de deixar a desejar no asseio pessoal, unhas longas, muitas vezes com esmalte, utilização de adornos e cabelos desprotegidos; secagem das mãos inadequada sem utilização de toalha específica para essa função ou com papel descartável; observou-se manipuladores trabalhando com estado de saúde comprometido; a maioria das UEI não possuem ajudantes e nem supervisor de produção.

O bloco 4, preparo da merenda escolar, apresentou 45,5% de inadequação, os principais problemas são com relação ao armazenamento inadequado dos alimentos num ambiente sem ventilação e de difícil higienização. A organização do espaço pode auxiliar na produção segura de alimentos (TAN et al, 2013).

GRÁFICO 2. PORCENTAGEM MÉDIA DE ADEQUAÇÃO E INADEQUAÇÃO DOS BLOCOS ANALISADOS NO CHECK-LIST APLICADO NAS UEI



Fonte: Autor (2019)

Outros pontos observados se refere a falta de controle de circulação e acesso do pessoal não pertencente ao local; ausência de controle de temperatura pela inexistência de termômetros e descongelamento de alimentos realizados de forma inadequada. Não é realizado procedimento de registro de temperaturas nas UEI pesquisadas, Oliveira et al. (2014), inferem que isso pode influenciar no crescimento microbiano particularmente associado com a manipulação

inadequada dos alimentos e a contaminação cruzada das superfícies tais como: bancadas e tábuas mal higienizadas.

Para inferir as condições nas quais os alimentos foram produzidos, além da avaliação por meio do *check-list*, as análises microbiológicas permitem avaliar a qualidade dos alimentos (PINTO et al, 2009).

Observou-se que para as amostras de água 66,7% das UEI encontram-se de acordo com a legislação para coliformes totais e para coliformes termotolerantes em 75,0%, revelando um número muito alto de contaminação tendo em vista que todas as UEI têm água tratada advinda do abastecimento público. A média de coliformes estabelecida na legislação é de ausência em ambos os casos (BRASIL, 2011). Os limites resultados microbiológicos encontrados nesse estudo para as amostras de água são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Pesquisa de coliformes a 35°C e 45°C nas amostras de água coletadas dos reservatórios das uei destinada a preparação dos alimentos

UEI	Coliformes a 35°C		Coliformes a 45°C	
	Diagnóstico	Legislação	Diagnóstico	Legislação
	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	Presença	Ausência	Presença	Ausência

Fonte: Autor (2019).

A causa desta inadequação pode ser o reservatório de água, conforme foi observado por Cardoso et al. (2007) que avaliaram escolas com as mesmas condições de abastecimento e verificaram que em 51% dos casos de presença de coliformes totais estava relacionado a falta de higienização periódica dos reservatórios.

Dentre os utensílios e superfícies analisados, a tábua de corte foi a que teve maior índice de contaminação por coliformes a 45°C. Em 33,3% das unidades a tábua estava com valores superiores a 3,04 log NMP/ml, seguido pela faca 25,0% e bancadas 16,7%. A contagem de bactérias mesófilas foi muito elevada, 100% dos utensílios e superfícies estavam com contagem ultrapassando 7 log UFC/ml. Superfícies de corte são potenciais veículos de patógenos e se faz necessário a diferenciação das superfícies para a manipulação de diferentes alimentos (LEITE et al., 2009). Esse resultado demonstra que as amostras estão sendo higienizadas de forma inadequada que implica numa qualidade ruim na produção de alimentos.

De acordo com a legislação em relação aos coliformes termotolerantes, apenas uma UEI (8,3%) tinha carne bovina fora do permitido. As amostras de frango não apresentaram contaminação fora do permitido pela legislação. O que difere de outros estudos, Sales et al. (2017), analisaram amostras de peito de frango e 60% delas estavam consideradas impróprias

para o consumo humano, apresentando modificações em relação a aroma, viscosidade, aparecimento de odores sulfídricos e de ésteres ácidos (SILVA, 2002; BRITO, ALVES e COSTA, 2010). Quanto as contagens de microrganismos nas amostras de carne bovina, frango e leite em pó, os resultados se encontram na Tabela 2.

TABELA 2. Variação mínima e máxima de coliformes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp nas amostras de carne bovina, frango e leite em pó

	Coliformes a 45°C (log NMP/g) (n=12)		<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (log UFC/g) (n=12)		<i>Salmonella</i> sp/25g (log UFC/g) (n=12)	
	Variação	Legislação*	Variação	Legislação*	Variação	Legislação*
Carne	<1,43 (11)	-	<3,48 (0)	-	Ausência	Ausência
	>3,04 (1)	-	>5,14 (12)	-	Ausência	Ausência
Frango	<1,36 (12)	5	<3,48 (1)	-	Ausência	-
	5,00 (0)	5	3,98 (11)	-	Ausência	-
Leite	<1,00 (11)	1	<3,00 (6)	3	Ausência	Ausência
	1,18 (1)	1	>3,00 (6)	3	Ausência	Ausência

* RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (ANVISA)

Fonte: Autor (2019).

A contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva (SCP) apresentou-se alarmante, onde 100% das UEI estavam com as amostras de carne contaminada. Resultado semelhante foi encontrado por Ferreira (2008), após análise da carne bovina da cidade de Uberlândia-MG constatou-se que 100% das amostras estavam contaminadas com SCP. Silva Jr. (1996), afirmou que a presença de SCP além de patogênico é um indicador de contaminação e condutas inadequadas de manipulação. Esse microrganismo pode produzir uma enterotoxina termorresistente que não é afetada pela exposição a uma temperatura de 100°C por 30 minutos (PINTO, 1996).

No frango, a presença de SCP manteve-se expressiva 91,7% das amostras. Diferindo do estudo de Oliveira (2018), onde em 100% das amostras de frango das escolas não havia presença desse microrganismo.

A presença de coliformes a 45°C no leite em pó representou 91,7% de adequação, corroborando com estudos de Reginato et al. (2014), ao analisar fórmulas infantis em pó identificaram um percentual de adequação de 92,3%. A presença de SCP no leite em pó foi de 50%, não corroborando com muitos estudos desenvolvidos que provam a baixa incidência desse microrganismo neste tipo de alimento (REGINATO et al., 2014; BUCHANAN e RUTH, 2012).

Essa presença representativa de SCP faz despertar para novas pesquisas, pois dentre estas espécies está o *Staphylococcus aureus*, que são microrganismos mesófilos (ideal entre

35°C e 37°C), capazes de se desenvolver em ampla faixa de pH (ideal entre 7,0 e 7,5) e são halotolerantes (GOMES, 2004). O *S. aureus* possui capacidade de adquirir resistência a antibióticos e é patogênico, sendo a espécie mais relacionada a surtos alimentares (DE BUYSER et al., 2001).

Não foi evidenciada a presença de *Salmonella* sp nas amostras de alimentos das UEI estudadas, atendendo ao padrão de ausência em 25g estabelecido pela legislação (BRASIL, 2001).

A maioria das inconformidades que maximizam os riscos de contaminação podem ser sanadas com a correta higienização e sanitização de equipamentos e utensílios, reservatório de água, das instalações e da assepsia correta de mãos. Isso pode ser evidenciado com os resultados das análises microbiológicas, nas quais os índices de contaminação foram considerados, em sua maioria, inadequados. Sugere-se que haja melhores medidas de controle dessa qualidade, documentação das atividades e treinamentos mais frequentes.

2.5 CONCLUSÃO

A partir da avaliação das UEI públicas municipais evidenciou-se a inadequação das condições higiênico-sanitárias das Unidades do município de Mossoró-RN. As inadequações encontradas nas UEI comprometem diretamente a boa qualidade das refeições servidas aos mais 1800 pré-escolares matriculados.

Os principais problemas das UEI quanto ao aspecto higiênico-sanitário referem-se à deficiência de recursos humanos qualificados, as condições das instalações, além da ausência de implantação das BPF. As 12 UEI não atendem ao pré-requisito para o conceito de segurança alimentar haja vista a vulnerabilidade das crianças beneficiadas pelo PNAE.

REFERÊNCIAS

- APHA (American Public Health Association). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: American Public Health Association, 2001. Disponível em <http://ajph.aphapublications.org/doi/book/10.2105/MBEF.0222>. Acesso em: 28 de novembro de 2018.
- BRASIL. **Manual de apoio para atividades técnicas do nutricionista no âmbito do PNAE** (Programa Nacional de Alimentação Escolar). – Brasília: FNDE, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 62, de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Análise Microbiológica para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/ industrializadores de alimentos. **Diário Oficial [da] da República Federativa do Brasil**, Brasília, 06 de novembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº2914, de 12 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 266, 26 de dezembro, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC n.12, 2 de janeiro de 2001. Revoga Portaria n.451, de 19 de setembro de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2 jul.1998. art. 4º, p.1-48, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <<http://dab.saude.gov.br/portaldab/pnan.php>> Acesso em: 10 out. 2018.
- BRASIL. Ministério da Educação. Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (FNDE). **Cartilha nacional da alimentação escolar**. 2. ed. Brasília, DF, 2015. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/programas/pnae/pnae-area-para-gestores/pnae-manuais-cartilhas/item/6820-cartilha-pnae-2015>>. Acesso em: 20 dez. 2018.
- BRITO, D. A. P., ALVES, L. M. C., COSTA, F. N. Detecção de *Salmonella alban*, *Staphylococcus coagulase* positivos e micro-organismos mesófilos em carcaças de frango in natura. **Arq inst biol** [periódico na Internet]. 2010.
- BUCHANAN, R. L., RUTH, O. Use of Microbiological Indicators for Assessing Hygiene Controls for the Manufacture of Powdered Infant Formula. **Journal Food Prot**. 2012
- CARDOSO, R. C. V., et al. Qualidade da água utilizada em escolas atendidas pelo Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), em Salvador-BA. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 3, p. 287-291, 2007.

DE BUYSER, M.-L.; DUFOUR, B.; MAIRE, M.; LAFARGE, V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, p. 1-17, 2001.

FAÚLA, Leandro Leão; SOARES, Ana Carolina Cordeiro; DIAS, Ricardo Souza. Panorama dos surtos de doença de transmissão alimentar (DTA) ocorridos em Minas Gerais, Brasil, no período de 2010 a 2014. **Gerais: Revista de Saúde Pública do SUS/MG**, v. 3, n. 1, p. 86-95, 2017.

FERREIRA, I. M. **Riscos Relacionados à Contaminação Microbiana da Carne Bovina Moída**. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia, 2008. Disponível em <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/12936>>. Acesso em: 24 nov. 2018.

GOMES, D.M. **Resíduos de Antibióticos Promotores de Crescimento em Produtos de Origem Animal**. 2004. 69 f. Monografia (Especialista em Qualidade em Alimentos) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2004.

LEITE, L. H. M., et al. Boas práticas de higiene e conservação de alimentos em cozinhas residenciais de usuários do programa saúde da família-Lapa. **Revista ciências médicas, (Campinas)**. Campinas, 18(2): 81-88, mar.-abr. 2009.

MARTINS, M. L.; ROCHA, A. Evaluation of prerequisite programs implementation at schools foodservice. **Food Control**. vol. 39, p. 30-33, 2014.

MARTINS, R. C. **O benefício da alimentação adequada como um direito humano fundamental**: uma análise do programa nacional de alimentação escolar. 2017. 41 f. Monografia (Especialização) - Curso de Direito, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2017.

OLIVEIRA, A. B. A., et al. Hygiene and good practices in school meal services: Organic matter on surfaces, microorganisms and health risks. **Food Control**, v. 40, p. 120-126, 2014.

OLIVEIRA, A. M. et al. Manipulador de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 115, p. 13-19, 2004.

OLIVEIRA, J. M. L. **Capacitação de manipuladores de alimentos na perspectiva do programa nacional de alimentação escolar**. 100 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais), Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Pombal, 2018.

PINTO, A. F. **Papel dos Microrganismos na Produção e na Transformação de Alimentos**. Terra Fértil, v. 1, p 55-61, 1996.

PINTO, M. S. et al. Segurança alimentar do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de Boas Práticas de Fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v. 39, n. 4, p. 342-347, 2009.

REGINATO, A., et al. Qualidade microbiológica de fórmulas infantis administradas em hospital público do município de Campinas, São Paulo. **Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas**. p. 387-394, 2014.

SALES, B. S., et al. Avaliação microbiológica da carne de frango. **Cadernos da Escola da Saúde**. Curitiba, p. 40-49. 2017.

SANT'ANA, H. M. P. **Planejamento físico-funcional de unidades de alimentação e nutrição**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

SANTOS FILHA, E. O. et al. Consumo dos grupos alimentares em crianças usuárias da rede pública de saúde do município de Aracaju, Sergipe. **Revista Paulista de Pediatria**, 2012.

SANTOS, Ana Paula Costa dos; SANTOS, Valdirene F. Neves do. Adequação de estrutura física de unidades de alimentação e nutrição na cidade de são paulo - SP. **Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v. 22, n. 1, p.14-20, jun. 2016. Semestral.

Silva C. **Merenda escolar**: levantamento das condições higiênico-sanitárias dos locais de preparação e dos manipuladores em escolas da rede estadual de ensino de São Paulo, SP, Brasil [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.

SILVA, Jr, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1996. p. 205-214.

TAN, S. L. et al. Hand hygiene knowledge, attitudes and practices among food handlers at primary schools in Hulu Langat district, Selangor (Malaysia). **Food Control**. 2013

**3 CAPÍTULO 3 – IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM ALIMENTOS DE UEI**

RESUMO

RESUMO: O objetivo deste estudo foi identificar e caracterizar cepas de *Staphylococcus aureus* em alimentos na fase de pré-preparo em Unidades de Educação Infantil (UEI) do município de Mossoró no Rio Grande do Norte. A coleta das amostras de alimentos deu-se entre abril e maio de 2018. Foi realizada uma análise microbiológica de contagem de *Staphylococcus* spp, a partir das amostras de carne bovina, frango e leite em pó reconstituído para posterior extração do material genético. Foram isoladas 109 cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, dessas 96 foram confirmadas por meio de PCR sendo da espécie *S. aureus*. Por meio da detecção de genes produtores de enterotoxinas estafilocócicas, identificou-se que 64,6% apresentavam genes (SEA, SEG e SEI). Os *S. aureus* mostraram-se 100% multirresistentes aos antibióticos testados e 84,4% são *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). As UEI apresentam uma elevada contaminação por *S. aureus* e eminente risco à saúde das crianças pela identificação de MRSA.

Palavras-chave: alimentos infantis; reação em cadeia da polimerase; saúde pública; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina.

3.2 INTRODUÇÃO

O gênero *Staphylococcus* está amplamente distribuído no mundo como comensal da pele e mucosas de animais e humanos. Compreende bactérias Gram positivas, de conformação esférica (cocos) e arranjadas em cachos. São catalase positiva, anaeróbios facultativos, imóveis e não formadores de esporos (SILVA et al., 2013; TORTORA, FUNKE e CASE, 2012).

No que concerne à vigilância sanitária e inspeção de alimentos, as espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) possuem maior relevância. Isto se deve ao fato de serem os mais comumente envolvidos em surtos pela produção de enterotoxinas, sendo o *Staphylococcus aureus* o principal envolvido (SILVA et al., 2013).

Uma das técnicas mais eficientes de confirmação de espécies de SCP é a Reação da Polimerase em Cadeia (PCR). Se trata de uma ferramenta molecular, que busca amplificar um ou mais segmentos de genes específicos, a interferência de variantes ambientais não é relevante como em técnicas convencionais em que o microrganismo pode não expressar características esperadas (MADIGAN et al., 2012).

Os *S. aureus* podem produzir enterotoxinas, sendo classificadas de enterotoxinas estafilocócica clássicas: SEA, SEB, SEC, SED e SEE; e não clássicas: SEG, SEH, SEI, SEJ, SER, SES e SET (ARGUDIN et al., 2010; HENNEKINNE et al., 2012). Estas SE compartilham características importantes: 1. Semelhança estrutural; 2. Resistência a aquecimento e à ação de proteases (pepsina e tripsina); 3. Atuação como superantígeno com ativação inespecífica de células T seguida de mediadores da inflamação; e 4. Indução de êmese em modelos primatas (PARHAM, 2001; BAKER; ACHARYA, 2004).

A transcrição dos genes das SE ocorre em todas as etapas do crescimento bacteriano, porém a sua intensidade varia conforme o tipo de enterotoxina. Cada gene de SE possui um comportamento específico e parece exibir seu próprio padrão de expressão, independente das diferenças entre cepas (DERZELLE et al., 2009).

Com relação aos fatores populacionais, se encontram grupos humanos que podem ter maior susceptibilidade à colonização e que se denominaram de alto risco: crianças, militares, esportistas, trabalhadores da área de saúde, pessoas hospitalizadas, veterinários e outros indivíduos em contato com animais (TAMAYO; QUICENO, 2015).

O objetivo deste trabalho foi identificar e caracterizar a nível molecular cepas de *Staphylococcus aureus* em alimentos na fase de pré-preparo das Unidades de Educação Infantil (UEI) do município do Rio Grande do Norte.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Origem, obtenção das amostras e identificação fenotípica de *Staphylococcus aureus*

O município de Mossoró possui 37 Unidades de Educação Infantil localizadas entre a zona urbana e a rural da cidade. Para definir o tamanho da amostra optou-se por selecionar 30% das UEI, o critério adotado para seleção foi um sorteio onde foram selecionadas 12 unidades aleatórias e da aprovação da Secretaria de Educação do município para coleta das amostras. As amostras foram coletadas diretamente em cada UEI e analisados conforme procedimentos da legislação vigente (BRASIL, 2003; APHA, 2001).

No período de abril a maio de 2018, foram coletadas 36 amostras de alimentos de origem animal em 12 UEI do município. Destas amostras, 12 eram de carne bovina, 12 de carne de aves e 12 de leite em pó. Todos os alimentos coletados encontravam-se na fase de pré-preparo, no caso do leite, este encontrava-se reconstituído.

A contagem de *Staphylococcus* spp. foi realizada em ágar Baird-Parker (BP) adicionado de gema de ovo com telurito. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Decorrido esse tempo foram selecionadas cinco colônias típicas das placas de BP, estas colônias foram cultivadas em caldo BHI (*brain heart infusion*) por 24 horas a 37°C e em seguida realizou-se a prova de coagulase, catalase e coloração de Gram. As cepas foram mantidas sob refrigeração em caldo BHI até o momento das análises moleculares.

3.3.2 Extração do material genético

Para realizar a extração do DNA, uma alíquota do cultivo dos isolados SCP em caldo BHI foi estriada em BHI Agar, após crescimento, foi adicionada uma colônia em um eppendorf de 1,5 mL contendo 1 mL de água Miliq estéril, em seguida o eppendorf foi levado para centrifugação, 12.000 rpm durante 1 minuto. O sobrenadante foi descartado e o pélete foi submetido a extração de DNA utilizando o utilizando a metodologia do *kit* comercial (InstaGene™ Matrix, Bio-Rad®).

3.3.3 Identificação molecular de *S. aureus*

A identificação da espécie *S. aureus* entre as cepas de SCP aconteceu utilizando os oligonucleotídeos iniciadores apresentados na Tabela 1 e as condições descritas por Sasaki et al., (2010).

TABELA 1. Oligonucleotídeos para identificação de *S. aureus*

Oligonucleotídeo iniciador	Sequência (5' → 3')	pb	Condições da reação
au-F3	TCGCTTGCTATGATTGTGG	359	94°C/2 minutos
			95°C/30 segundos
Au-nucR	GCCAATGTTCTACCATAGC		56°C/35 segundos
			72°C/1 minuto
			72°C/7 minutos

Fonte: Sasaki et al., (2010)

A reação de amplificação do fragmento do gene *nuc* foi realizada contendo 5 µL de Buffer 5X, 0,5 µL de desoxinucleotídeo (dNTP) (10mM), 1U de Taq Polimerase (GoTaq® Hot Start Polymerase, Promega Corporation, Madison, EUA), 2 µL de DNA, 1 µL de cada primer (10pmol), 2,5 µL de MgCl₂ (25mM) e água ultrapura esterilizada numa quantidade suficiente para completar um volume final de 25 µL. Os fragmentos de DNA amplificados foram analisados por meio de eletroforese em gel de agarose 1,5% (m/v) adicionado de Syber Safe, em tampão TBE 0,5x (Tris Base 1M – Ácido Bórico – EDTA 0,5M pH 8,0) por 60 minutos a 100 V e aplicado um padrão de peso molecular de 100bp (Promega®).

No gel de identificação de *S. aureus* os poços foram distribuídos da seguinte forma: no primeiro poço o marcador genético de 100bp, no segundo poço a cepa ATCC 23235 utilizada como controle positivo, seguida do controle negativo da reação e os isolados SCP. Passado o tempo da corrida, os géis foram visualizados e fotografados sob luz UV em transiluminador e capturados com o sistema UVI-1D (*Uvitec Cambridge*).

3.3.4 Detecção de genes para produção de enterotoxinas

Os genes que codificam enterotoxina foram identificados usando sequências de oligonucleotídeos por PCR convencional. As sequências correspondentes aos genes *SEA*, *SEB*, *SEC*, *SED*, *SEE*, *SEG*, *SEH*, *SEI* e *SEJ* encontram-se na Tabela 2. As reações de amplificação dos fragmentos dos genes que codificam enterotoxinas foram realizadas contendo 5 µL de Buffer 5X, 0,2 µL de desoxinucleotídeo (dNTP) (10mM), 1U de Taq Polimerase (GoTaq® Hot

Start Polymerase, Promega Corporation, Madison, EUA), 2 µL de DNA, 1 µL de cada primer (10pmol), a concentração de MgCl₂ variou de acordo com a Tabela 2 e água ultrapura esterilizada numa quantidade suficiente para completar um volume final de 25 µL (CANDIDO, 2018).

TABELA 2. OLIGONUCLEOTÍDEOS PARA INVESTIGAÇÃO DE GENES DE VIRULÊNCIA DE *S. aureus*

Gene	Sequência (5' → 3')	pb	Temperatura/tempo de anelamento (°C/min) e ciclos	MgCl ₂	Referência
<i>SEA</i>	TTGGAAACGGTTAAAACGAA GAACCTTCCCATCAAAAACA	120	54°C/1 min – 30 ciclos	2,0 mM	Johnson et al., (1991)
<i>SEB</i>	TCGCATCAAACGACAAACG GCAGGTACTCTATAAGTGCC	478	54°C/1 min – 30 ciclos	1,0 mM	
<i>SEC</i>	GACATAAAAGCTAGGAATTT AAATCGGATTAACATTATCC	257	53°C/1 min – 30 ciclos	1,5 mM	
<i>SED</i>	CTAGTTTGGTAATATCTCCT TAATGCTATATCTTATAGGG	317	54°C/1 min – 30 ciclos	0,75 mM	
<i>SEE</i>	AGGTTTTTCACAGGTCATCC CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC	209	54°C/1 min – 30 ciclos	0,75 mM	Mehrota et al., (2000)
<i>SEG</i>	AAGTAGACATTTTTGGCGTTCC AGAACCATCAAACCTCGTATAGC	287	54°C/1 min – 30 ciclos	2,0 mM	Omoe et al., (2002)
<i>SEH</i>	GTCTATATGGAGGTACAACACT GACCTTTACTTATTTTCGCTGTC	213	55°C/1 min – 30 ciclos	2,0 mM	
<i>SEI</i>	GGTGATATTGGTGTAGGTAAC ATCCATATTCTTTGCCTTTACCAG	454	56°C/1 min – 30 ciclos	0,75 mM	
<i>SEJ</i>	CATCAGAAGTGTGTTCCGCTAG CTGAATTTTACCATCAAAGGTAG	142	64°C/1 min – 30 ciclos	2,5 mM	Nashev et al., (2004)

Fonte: CANDIDO (2018)

3.3.5 Caracterização fenotípica e genotípica da resistência aos antibióticos

Foi utilizado o método de disco-difusão de antibióticos comercial para identificar a resistência fenotípica a antibiótico dos isolados. Os antibióticos testados foram penicilina (PEN), cefoxitina (CEF), oxacilina (OXA), eritromicina (ERI), clindamicina (CLI), cloranfenicol (CLO), ciprofloxacina (CLI), tobramicina (TOB), tetraciclina (TET) e gentamicina (GEN). Os resultados foram interpretados com base nas instruções da CLSI (2015).

Foram realizadas PCR convencionais para os genes de resistência a antibióticos *mecA* (MOON et al., 2007), e *mec A* LGA251 (*mec C*) (CUNY et al., 2011) afim de caracterizar as cepas como *S. aureus* resistentes à metilina (MRSA).

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Isolamento e identificação fenotípica

Para ser considerado isolado positivo no teste de coagulase, foram considerados os que apresentaram entre 1 e 4 cruzes, com finalidade de não subestimar a quantidade de *S. aureus* isolados. Após realizar o teste de coagulase com os 180 isolados das amostras, foram confirmadas 109 (60,6%) cepas de SCP. Resultado que se assemelha ao de Luz et al. (2015), que estudaram a carne moída bovina no município de Natal-RN, no qual observaram que 50% dos isolados de *Staphylococcus* spp. eram SCP.

Dos 109 isolados, 35 (32%) apresentaram 1+ ou 2+ para o teste de coagulase e 61 (68%) apresentaram 3+ ou 4+ para o mesmo teste. Mesmo com o mínimo de coágulo é possível que a cepa possua gene que a identifique genotipicamente como *S. aureus*.

3.4.2 Identificação genotípica

Dos 109 isolados foi amplificado o oligonucleotídeo *nuc* que confirmou a identificação do *S. aureus* em apenas 96 isolados. Apesar de no teste bioquímico 60,6% (n=109) terem sido SCP, a confirmação de *S. aureus* pela detecção do gene *nuc* na PCR confirmou 53,3% (n=96) do total de amostras. Abaixo na Tabela 3 está representado a quantidade de isolados a partir do teste de coagulase e do gene *nuc*.

TABELA 3. Quantidade de isolados de SCP por método convencional e PCR do gene *nuc*

Origem	Isolados (n=109)				<i>S. aureus</i> (n=96)			
	Total (%)	Frango (%)	Carne (%)	Leite (%)	Total (%)	Frango (%)	Carne (%)	Leite (%)
UEI	109 (100)	40 (36,7)	47 (43,1)	22 (20,2)	96 (100)	33 (34,4)	43 (44,8)	20 (20,8)

Fonte: Autor (2019)

Essa diferença entre os resultados obtidos na prova de coagulase e na técnica de PCR para o gene *nuc*, também foi observada por Aragão (2018).

Apesar do *S. aureus* se apresentar como coagulase positiva, foi observado que outras espécies também possuem essa mesma característica, tendo em vista que nem todos os isolados

pelo método convencional foi confirmado por meio da PCR. O *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius* também são coagulase positiva (+3).

3.4.3 Detecção de genes para produção de enterotoxinas

Dos 96 *S. aureus* identificados, 62 (64,6%) apresentaram genes codificadores de SE investigados nesta pesquisa. Em relação as enterotoxinas clássicas, foi identificado o gene *SEA* em 51 (53,1%) dos isolados. As enterotoxinas não-clássicas foram identificadas em 38 isolados, os genes da *seg* foi encontrado em 31 (32,3%) isolados e *sei* em 17 (17,7%) isolados.

S. aureus é um dos mais importantes patógenos envolvidos em surtos alimentares no mundo. No Brasil, *S. aureus* é o segundo maior causador de surtos, com notificação de cerca 854 surtos entre os anos de 2000 e 2015 (BRASIL, 2018).

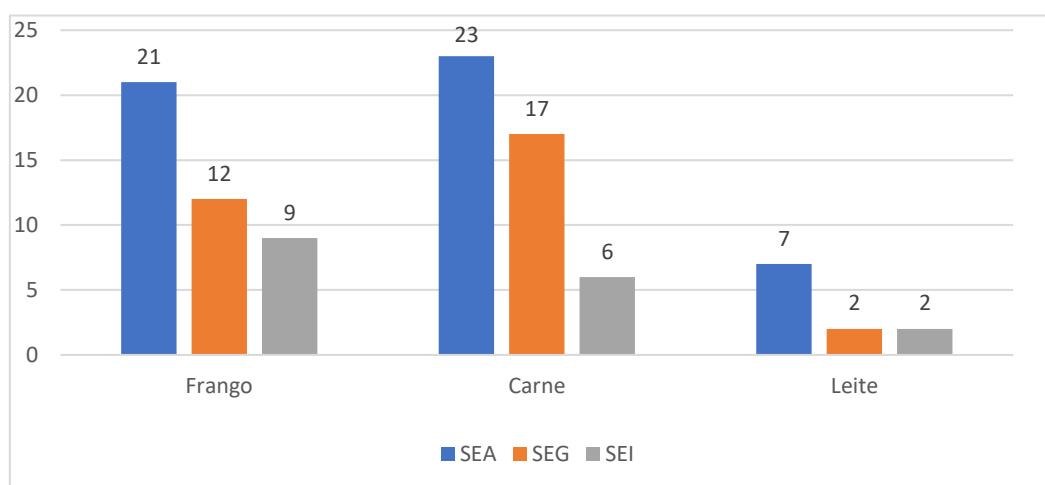
Estes casos comprovam a importância da obtenção higiênica e de sua conservação até o momento do processamento na indústria, impedindo, desta forma, a multiplicação de *Staphylococcus* enterotoxigênicos e, conseqüentemente, a formação de enterotoxina.

Grandra et al. (2016), apontam o *S. aureus* como uma das três espécies de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva que já esteve envolvido em inúmeros surtos de intoxicação alimentar e capaz de produzir SE.

No presente estudo, a carne bovina foi o alimento que apresentou maior número de isolados com gene para produção de SE, seguida pelo frango e por último o leite em pó, mas apesar dessa confirmação não se pode afirmar por meio dessa PCR se essas cepas poderiam estar se expressando ou não como agente causal de surto, essas informações servem para caracterizar as cepas de *S. aureus* (WU et al., 2016).

A *SEA* foi a enterotoxina mais identificada nas cepas, alguns autores observaram que essa SE é frequentemente identificada em humanos (RALL et al., 2008). Levando em consideração que todas as amostras coletadas para análise já haviam tido contato com os manipuladores, acredita-se que essa espécie pode ter contaminado os alimentos pelo manipulador devido à falta de higienização adequada das mãos, bancadas e utensílios. Ver Gráfico 1.

GRÁFICO 1. QUANTIDADE DE ISOLADOS DAS AMOSTRAS QUE APRESENTARAM GENES DE ENTEROTOXINA ESTAFILOCÓCICA EM FRANGO, CARNE BOVINA E LEITE EM PÓ



Fonte: Autor (2019)

Alguns isolados apresentaram mais de um gene de produção de enterotoxina: apenas 1 gene – 31 isolados; 2 genes – 21 isolados; 3 genes – 5 isolados. Em estudo realizado por Song et al. (2014), avaliou a diversidade genética e potencial de virulência dos isolados de *S. aureus* de produtos alimentares crus e processados em Xangai, 2 isolados de *S. aureus*, um de leite cru e outro de produtos de soja processados, possuíam 12 genes de diferentes toxinas. A porcentagem de isolados toxigênicos de *S. aureus* foi maior para os isolados de carne (80%) ou de leite cru (89,7%) do que outros isolados. Pires et al. (2012), pesquisaram vários surtos causados por *S. aureus* ocorridos em diferentes países dentre eles os produtos lácteos eram a principal fonte de doença (30,3%), seguidos de grãos e feijão (12,9%), carne (10,5%) e outras fontes (7,0%).

Os sintomas da ingestão dessas SE ocorrem em média após duas a seis horas da ingestão da toxina tendo relatos de sintomas iniciados com menos de uma hora após a ingestão. Náuseas, vômitos, cólicas, prostração, pressão baixa, dor de cabeça e, eventualmente, febre baixa podem ocorrer. A recuperação ocorre em aproximadamente dois dias e complicações ou morte são raras (JABLONSKI; BOHACH, 1997; SILVA et al., 2013).

Microrganismos do gênero *Staphylococcus* spp. são facilmente destruídos pela pasteurização ou cocção de alimentos, porém as enterotoxinas produzidas por ele são termoestáveis, suportando até mesmo tratamentos como a esterilização de alimentos de baixa acidez (SILVA et al., 2013). Devido a essa característica é de suma importância a aplicação das

Boas Práticas de Fabricação (BPF) durante a manipulação e armazenamentos dos alimentos *in natura*.

Quando os alimentos são produzidos com carga estafilocócica baixa, eles geralmente permanecerão seguros no que concerne à intoxicação por enterotoxinas se as condições de estocagem forem corretas abaixo de 4°C ou acima de 60°C até o momento do consumo (JAY, LOESSNER e GOLDEN, 2005).

Quando o alimento é armazenado em baixas temperaturas, o risco de produção de SE é mínimo. A composição do alimento também influencia na elaboração de SE, por exemplo, a presença de conservantes químicos parecem impedir a sua formação (MIN et al.; 2013).

Quanto à característica de estabilidade térmica, verificou-se que para a inativação de 90% de uma SE seria necessária uma temperatura de 98,9°C durante 68,9 min (READ JR e BRADSHAW, 1966). Tendo em vista o tempo de preparo e falta de termômetro nas UEI, seria quase inevitável que a carne bovina e o frango continuassem com essas enterotoxinas quando fossem distribuídas as crianças. O leite, entretanto, não passaria por mais nenhum tratamento térmico, tornando-se um potencial agente causador de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) que muitas vezes são negligenciadas sem buscar a causa destes problemas.

Segundo Rossi (2006), a Organização Mundial da Saúde (OMS) realizou estudos sobre esse assunto e os resultados apontam que as toxinfecções alimentares são as doenças mais comuns, entre as quais mais de 60% dos casos decorrem de técnicas inadequadas de manipulação, processamento e contaminação dos alimentos.

Após uma pesquisa realizada avaliando as boas práticas nas cozinhas das escolas de ensino infantil e fundamental do município de Caucaia/CE, Aguiar (2009) identificou que quatro escolas com mais de 1000 alunos matriculados em cada uma delas oferecem riscos decorrentes da ausência de implantação das BPF, além de diagnosticar pontos críticos na área de produção, entre eles estão: as condições de armazenamento dos alimentos e a falta de capacitação do manipulador. As quatro escolas não oferecem garantia da qualidade dos alimentos e não atendem ao pré-requisito para o conceito ampliado de Segurança Alimentar.

Considerando os aspectos da segurança alimentar, bem como o fato que as crianças pertencem a um dos grupos mais suscetíveis às DTA, a avaliação das condições higiênico-sanitárias dos serviços de alimentação nas escolas assume grande importância (OLIVEIRA, BRASIL e TADDEI, 2008).

Os casos de DTA registrados são ocasionados por bactérias patogênicas e/ou suas toxinas. Nos alimentos crus, é possível encontrar um determinado nível aceitável desses

microrganismos, porém as condições de estocagem e/ou manipulação inadequada, contribuem para o aumento significativo desse nível (FABBI et al., 2011).

3.4.4 Antibiograma e genes de resistência

De modo geral, verificou-se elevado percentual de resistência antimicrobiana das 96 cepas de *S. aureus* aos 9 antibióticos testados. A ordem decrescente de resistência foi: PEN (100%), OXA (100%), CLI (98,9%), CEF (96,9%), ERI (93,8%), TOB (6,3%), GEN (4,2%), TET (3,1%) e CLO (0,0%).

Observou-se elevado percentual de resistência múltipla das cepas aos antibióticos. Resistência a três (3,1%), quatro (7,3%), cinco (79,2%) e seis (12,5%) dos nove antibióticos testados. O uso inadequado de antibióticos, seja por tempo de uso ou a utilização de um medicamento que não é recomendado para o tipo de bactéria que esteja provocando a doença, contribui para o aumento da resistência antimicrobiana, esse problema pode afetar todos os países (BRAGG et al, 2018). Quanto mais resistente uma bactéria, menor a chance de um paciente se recuperar, causando assim um enorme problema de saúde pública (OMS, 2014).

O cloranfenicol foi o único antibiótico em que 100% das cepas não foi observada resistência. Este antibiótico age interferindo na síntese proteica bacteriana atuando como bacteriostático o que facilita o sistema imune a eliminar as bactérias já presentes no organismo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Houve um elevado percentual de resistência dos antibióticos beta-lactâmicos (penicilina e oxacilina), outros estudos tiveram resultados similares (PEREIRA et al., 2018; JAMALI et al., 2015; AKINDOLIRE et al., 2015). A resistência aos antibióticos está crescendo e as opções de novas drogas podem não acompanhar a necessidade do mercado, visto que os melhores antibióticos disponíveis para o tratamento de bactérias multirresistentes, carbapenêmicos e cefalosporinas, já estão apresentando resistência em muitas bactérias (OMS, 2018).

Esses antimicrobianos interferem na produção de peptidoglicano que compõe a parede celular das bactérias, principalmente nas gram-positivas, como o *S. aureus*, que possuem essa camada mais espessa que as gram-negativas, provocando sua lise e de certa forma ativando o mecanismo autolítico endógeno (WILLIAMS, 1999).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) elaborou uma lista com doze patógenos prioritários que representam a maior ameaça à saúde humana, o *S. aureus* encontra-se nesta lista

como “prioridade 2: alta” devido à resistência à meticilina, intermediário à vancomicina e resistente (WHO, 2017).

O *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) é aquele *S. aureus* caracterizado tipicamente pelo teste de suscetibilidade à oxacilina e/ou cefoxitina. Também é possível realizar essa detecção a nível molecular por meio de PCR para detecção do gene *mec A* que codifica as Proteínas Ligadoras de Penicilina (PLP) que reduziram a afinidade por antibióticos beta-lactâmicos (OTTO, 2012; OMS, 2014).

Outro gene com função semelhante é o *mec C*, esse gene tem níveis mais altos de resistência a cefoxitina do que à oxacilina. Apesar de ambos desenvolverem papel na atividade das PLP no processo de polimerização para formação da camada de peptidoglicano que constituem a parede celular de bactérias, o *mec C* apresenta-se menos estável a 37°C além de outras características. Na Tabela 4 estão os resultados do percentual de suscetibilidade à oxacilina e/ou cefoxitina, gene *mec A* e *mec C*.

TABELA 4. PERFIL DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES À METICILINA (MRSA) DOS ISOLADOS DAS AMOSTRAS DE CARNE, FRANGO E LEITE EM PÓ COLETADOS NAS UEI

	Frango (%)	Carne (%)	Leite (%)
Resistência à oxacilina e/ou cefoxitina	33 (100%)	43 (100%)	20 (100%)
Gene <i>mecA</i>	28 (84,8%)	38 (88,4%)	15 (75%)
Gene <i>mecC</i>	19 (57,6%)	23 (53,5%)	11 (55%)

Fonte: Autor (2019)

Os resultados obtidos quanto a ocorrência de isolados resistentes à oxacilina corroboram com o estudo de Obaidat et al (2017), onde 100% dos isolados portadores do *mec A* foram resistentes à oxacilina no antibiograma. O risco de veiculação de cepas de MRSA em alimentos vem sendo tratado ainda como grave problema de saúde pública e animal, repercutindo assim desde a produção à segurança dos alimentos (STASTKOVA et al., 2009; BASANISI et al., 2016; GANAI et al., 2016; OBAIDAT et al., 2017).

Não é comum a presença do gene *mec C* em uma frequência tão elevada. Desde 2013 estudos já apontavam um aumento na prevalência de MRSA *mec C* (PETERSEN, 2013). Paterson, Harrison e Holmes (2014), destacavam a importância de monitorar o MRSA *mec C* devido à variedade de espécies hospedeiras nas quais já haviam sido relatadas esse perfil de *Staphylococcus*, dentre elas: humano, gado leiteiro, cão doméstico (Reino Unido em 1993), humano, gado e ovelha (Dinamarca em 1975), humano (República da Irlanda em 2010),

humano, cão doméstico, gato doméstico, porco (Alemanha em 2004), gado leiteiro, humano (França em 2007), gado leiteiro, gado de corte (Bélgica em 1995), gado leiteiro (Suécia em 2003), gato doméstico (Noruega em 2012), humana (Espanha em 2008), humano (Suíça em 2011), gado leiteiro (Finlândia em 2006).

As bactérias de origem animal podem ser transmitidas aos seres humanos pelo contato, pela carne até mesmo pelo ambiente. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) tem atuado fiscalizando os produtores pecuários quanto ao uso de antibióticos em animais, atualmente é regulamentado a proibição do uso de penicilinas, cefalosporinas e colistina para a melhoria do desempenho dos animais no Brasil (NARAYANA; CHEN, 2015).

Diante disso, se observa a constância do ser humano como hospedeiro do MRSA *mec C*, uma hipótese deste resultado pode estar relacionada a metodologia de coleta das amostras, pois foram coletadas na fase de pré-preparo dos alimentos na qual já havia contato prévio do manipulador.

Os manipuladores são uma das mais importantes fontes de contaminação, seja a partir das mãos, cavidade nasal, bucal, trato gastrointestinal e/ou pele, cujas bactérias inerentes a essas partes do corpo podem contaminar os alimentos após o preparo caso não haja higienização adequada (FABBI et al., 2011).

É fundamental que todos os envolvidos direta ou indiretamente com a manipulação e produção de alimentos recebam capacitações relativas aos cuidados higiênico-sanitários que devem ser adotados e praticados, pois há possibilidade de serem portadores de microrganismos patogênicos.

3.5 CONCLUSÃO

Os alimentos de origem animal analisados na fase de pré-preparo nas Unidades de Educação Infantil no município de Mossoró-RN apresentam uma elevada contaminação por *S. aureus*. O risco à saúde das crianças é eminente pela identificação de MRSA e essas possuem genes produtores de pelo menos três SE.

REFERÊNCIAS

- AKINDOLIRE, M. A.; BABALOLA, O. O.; ATEBA, C. N. Detection of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* from milk: a public health implication. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 12, n. 9, p. 10254-10275, 2015.
- ANVISA. Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001. Brasil. Aprova o regulamento técnico princípios gerais para estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I, II e III. **Diário Oficial**. Brasília, 1 de janeiro de 2001.
- ARAGÃO, B. B. **Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e genes de resistência aos beta-lactâmicos e codificadores de enterotoxinas em queijo coalho artesanal elaborado com leite de cabra**. 2018. 74 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Biocência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2018.
- ARGUDIN, M. A., MENDOZA, M. C., RODICIO, M. R., Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. **Toxins** (Basel) 2:1751-1773.2010.
- BAKER, M. D.; ACHARYA, R. Superantigens: structure-function relationships. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 293, p. 529-537, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portal da Saúde. 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- BRAGG, R. R. et al. Potential treatment options in a post-antibiotic era. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. v. 1052, p. 51-61, 2018.
- CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana**: 15º Suplemento Informativo. NCCLS. 176p. 2005.
- CUNY, C., et al. Rare occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC130 with a novel mecA homologue in humans in Germany. **PLoS One**. 2011.
- DERZELLE, S. et al. Differential temporal expression of the staphylococcal enterotoxins genes during cell growth. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 896–904, 2009.
- GRANDO, W. F., et al. Suscetibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de manipuladores de indústria de laticínios. **Alimentos e nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 467-471, 2008.
- HENNEKINNE, J.A.; DE BUYSER, M.L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v.36, p.815–836, 2012.
- JABLONSKI, L.M., BOHACH, G.A. *Staphylococcus aureus*. In **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers** ed. Doyle, M.P., Beuchat, L.R. and Montville T.J., pp. 353–375. Washington: American Society of Microbiology Press. 1997.
- JAMALI, H., et al. Prevalence and antibiotic resistance os *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**. v.54, p. 384-388, 2015.
- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7. ed. New York: Springer, 2005.

- JOHNSON, W.M. et al. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. **Journal Clinical Microbiology**. v. 29, p. 426-430, 1991.
- LUZ, J. R. D., et al. Qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Natal, Rio Grande do Norte. **Nutrivisa: Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 2, n. 2, p.86-90, jun. 2015.
- MADIGAN, M. T. et al. **Brock Biology of Microorganisms**. 13. ed. San Francisco, CA: Pearson, 2012.
- MEHROTRA, M., WANG, G., JOHNSON, W. M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, *ar^A* methicillin resistance. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, p. 1032-1035, 2000.
- MOON, A. F., et al. The X family portrait: structural insights into biological functions of X family polymerases. **DNA Repair (Amst)**. v.6, p. 1709–1725, 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **NOTA TÉCNICA 295/2013**: Nota Técnica N° 295/2013. Brasília, 2013. 3 p.
- NARAYANA, J. L.; CHEN, JY. **Antimicrobial peptides**: Possible anti-infective agents. **Peptides**, v.72, p. 88-94, 2015.
- NASHEV, D., et al. Distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from stable nasal carriers. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, p. 45-52, 2004.
- OLIVEIRA, M. N., BRASIL, A. L. D., TADDEI, J. A. A. C. Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, junho, 2008.
- OMOE, K., et al. Detection of seg, seh and sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolate harboring seg, seh or sei genes. **Journal Clinical Microbiology**, v. 40, p. 857-862, 2002.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Antimicrobial resistance**: Global Report on Surveillance. 2014.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Drug Resistance**. 2018. Disponível em:<http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/>. Acesso em: 17 dez. 2018.
- OTTO, M. MRSA virulence and spread. **Cellular microbiology**, v. 14, n. 10, p. 1513-1521. 2012.
- PARHAM, P. O Sistema Imune. Porto Alegre: **Artmed**, 2001.
- PATERSON, G. K., HARRISON, E. M., HOLMES, M. A. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**. v. 22, p. 42-47, 2014.
- PEREIRA, C. T. M., et al. Microbiology quality, detection of enterotoxin genes and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from milk and Coalho cheese. **Food Sciences**. v. 39, p. 1957-1967, 2018.
- PIRES, S. M., et al. Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. **International Journal of Food Microbiology** 152:129- 138. 2012.

- RALL, V. L. M., et al. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strain isolated from raw and pasteurized milk. **Veterinary Microbiology**. v. 132, p. 408-413, 2008.
- SASAKI, T., et al. Multiplex-PCR method species identification of coagulase-positive *Staphylococcus*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 48, n 3, p. 765- 769, 2010.
- SILVA, N. et al. **Microbiological Examination Methods of Food and Water**. Londres: CRC Press, 2013.
- SONG, M., et al. Genetic diversity and virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from raw and processed food commodities in Shanghai. **International Journal of Food Microbiology**, 195, 1-8. v. 2014.
- TAMAYO, E. A. R., QUICENO, J. N. J. Factores relacionados con la colonización por *Staphylococcus aureus*. **IATREIA**. 2015.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
- WHO. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>. Acesso em: 15 jan. 2019.
- WILLIAMS, J.D. β -lactamases and β -lactamase inhibitors. Inter. **J. Antimicrob. Agents**, 12: 3-7, 1999.
- WU, S. et al. A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. **Toxins**. v.8(7), 2016.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou uma análise de como está a qualidade higiênico-sanitárias das Unidades de Educação Infantil do Município de Mossoró-RN. Além disso, também permitiu uma coleta de dados mais consistentes sobre as etapas do processo de produção da alimentação escolar, assim como a classificação dessas unidades quanto ao risco higiênico-sanitário e identificação de bactérias bastante nocivas à saúde presente na alimentação ofertada aos pré-escolares do município.

Dada à importância do assunto, torna-se necessário o desenvolvimento de formas de adequar as UEI de acordo com os parâmetros permitidos pela legislação vigente. Podendo melhorar não só a eficiência e eficácia do serviço como ofertar alimentos mais seguros. Recomenda-se a utilização e aprimoramento do *check-list* utilizado para avaliar as unidades com mais frequência.

Finalizando, se faz necessário ter constância nas análises para monitorar o funcionamento das UEI e reforçar a adoção das BPF.

ANEXOS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

CHECK-LIST DE CLASSIFICAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA

CAMPO A – IDENTIFICAÇÃO DA ESCOLA	
Nome da UEI:	
Endereço da UEI:	
Bairro:	
Telefone:	
E-mail:	
Responsável pela UEI:	
Responsável pela UAN:	

CAMPO B – AVALIAÇÃO			
BLOCO 1 – EDIFICAÇÕES E INSTALAÇÕES			
	CONFORME	NÃO CONFORME	N.A*
ÁREA EXTERNA			
Ausência de focos de contaminação na área externa; área livre de focos de insalubridade, de objetos em desuso ou estranho ao ambiente, de animais (inclusive insetos e roedores) no pátio e vizinhança; ausência de poeira; ausência de depósito de lixo nas imediações, ausência de água estagnada, dentre outros.			
ACESSO			
Armazenamento – Direto e não comum a outros usos			
Refeitório – Direto e não comum a outros usos			
Cozinha – Direto e não comum a outros usos.			
PISO			
Material que permite fácil e apropriada limpeza (liso, resistente, drenado e impermeável).			
Em adequado estado de conservação (livre de defeitos, rachaduras, trincas e buracos).			
TETO			
Acabamento liso, impermeável, de fácil limpeza, lavável e em cor clara.			
Em adequado estado de conservação (livre de trincas, rachaduras, umidade, bolor e descascamentos).			
PAREDES			
Acabamento liso, impermeável, lavável, em cor clara e de fácil limpeza até uma altura adequada para todas as operações.			
Em adequado estado de conservação (livre de falhas, rachaduras, umidade, descascamento e outros).			
PORTAS			
Adequado estado de conservação.			
Existência de proteção contra insetos e roedores (telas ou outro sistema).			
JANELAS			
Adequado estado de conservação			
Existência de proteção contra insetos e roedores (telas ou outro sistema).			
ILUMINAÇÃO			
Adequada à atividade desenvolvida, com proteção e em adequado estado de conservação.			
VENTILAÇÃO			
Fluxo de ar não oferece risco de contaminação.			
Ventilação e circulação de ar capazes de garantir o conforto térmico.			
INSTALAÇÕES SANITÁRIAS E VESTIÁRIOS PARA MANIPULADORES			
Adequado estado de conservação (água conectada à rede de esgoto).			

Ausência de comunicação direta com a área de trabalho e de refeições.			
Dotadas de produtos destinados à higiene pessoal.			
Lixeiras com tampa.			
Avisos com os procedimentos para lavagem das mãos.			
HIGIENE DAS INSTALAÇÕES			
Frequência de higienização das instalações (depósito e cozinha) adequada e suficiente.			
Produtos de higienização necessários à realização das operações.			
Produtos de higienização identificados e guardados em local adequado.			
CONTROLE DE PRAGAS			
Adoção de medidas preventivas com o objetivo de impedir a atração e a entrada de pragas.			
Em caso de adoção de controle químico (comprovante de execução do serviço).			
Ausência de animais ou qualquer evidência de sua presença.			
ABASTECIMENTO DE ÁGUA			
Sistema de abastecimento de água ligada à rede pública.			
Apropriada frequência de higienização do reservatório de água devidamente documentado.			
DISTRIBUIÇÃO DOS ALIMENTOS			
Realizado em local, limpeza e conservação adequados.			
RESÍDUOS			
Resíduos em recipientes tampados; recipientes de fácil limpeza e transporte, devidamente identificados e higienizados constantemente; uso de sacos de lixo apropriados.			
Retirada frequente dos resíduos da área de processamento, evitando focos de contaminação.			
NOTA: (*) não se aplica			

BLOCO 2 – EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS			
	CONFORME	NÃO CONFORME	N.A*
EQUIPAMENTOS			
Dotados de superfície de contato com os alimentos lisos, íntegros, laváveis e impermeáveis, resistentes à corrosão, de fácil limpeza e de material não contaminante (madeira ou outros).			
Em adequado estado de conservação e funcionamento.			
Equipamentos de conservação dos alimentos (refrigeradores, congeladores e outros) com adequada higiene e funcionamento.			
Instalados de forma adequada.			
Utilizados de acordo com sua finalidade de uso.			
MESAS E BANCADAS DA COZINHA			
Em número suficiente, de material apropriado, resistente, liso e impermeável, com superfícies íntegras, em adequado estado de conservação.			
UTENSÍLIOS			
Material não contaminante, resistentes à corrosão, de tamanho e forma que permitam fácil limpeza e em adequado estado de conservação.			
Higienização adequada.			
Armazenados em local apropriado, de forma organizada e protegido de contaminação.			
NOTA: (*) não se aplica			

BLOCO 3 – MANIPULADORES/MERENDEIRAS			
	CONFORME	NÃO CONFORME	N.A*
VESTUÁRIO			
Utilização de uniforme de trabalho adequado à atividade e exclusivo para área (touca e avental).			
Local adequado para troca de roupa pessoal.			
Limpos e em adequado estado de conservação.			
HÁBITOS DE HIGIENE			
Lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação de alimentos.			
Asseio pessoal: boa apresentação, asseio corporal, mãos limpas, unhas curtas, sem esmalte, sem adornos (anéis, pulseiras, brincos, etc.); manipuladores com os cabelos protegidos.			
Secagem das mãos realizada de forma adequada com toalha limpa e específica para esta função ou com papel descartável.			
Cartazes de orientação aos manipuladores sobre a correta lavagem das mãos e demais hábitos de higiene, afixados em locais apropriados.			
ESTADO DE SAÚDE			
Exames de saúde em dia.			
Ausência de afecções cutâneas, feridas e supurações; ausência de sintomas e infecções respiratórias, gastrointestinais e oculares.			
PROGRAMA DE TREINAMENTO E SUPERVISÃO			
Existência de programa de treinamento relacionado à higiene pessoal e à manipulação dos alimentos.			
Presença de um ou mais ajudantes.			
Existência de supervisão da produção.			
NOTA: (*) não se aplica			

BLOCO 4 – PREPARO DA MERENDA ESCOLAR			
	CONFORME	NÃO CONFORME	N.A*
RECEBIMENTO			
Embalagens e alimentos são inspecionados na recepção sendo controlado através de planilhas (validade, quantidade e integridade).			
ARMAZENAMENTO			
Permite limpeza e manutenção adequadas.			
Ausência de infiltrações.			
Ausência de embalagens rasgadas, estufadas ou abertas.			
Alimentos estocados em prateleiras e separados por categorias.			
Ausência de produtos químicos ou objetos que não estejam relacionados com alimentos.			
Ventilação e iluminação adequadas.			
Ausência de pragas.			
Ausência de material estranho, estragado ou tóxico.			
Produtos avariados e ou com prazo de validade vencido são devidamente identificados, armazenados em local separado e de forma organizada até seu destino final.			
Uso dos produtos respeita a ordem de chegada dos mesmos (PEPS).			
FLUXO DE PRODUÇÃO			
Controle da circulação e acesso do pessoal não pertencente ao local.			
Alimentos prontos para o consumo são refrigerados e reaquecidos a temperaturas seguras.			
Preparação de alimentos de acordo com cardápio pré-estabelecido para que não ocorra sobra ou falta de alimento para servir conforme as informações constantes na guia de recebimento.			
São seguidas as preparações de alimentos conforme instruções de uso da embalagem.			
TEMPO E TEMPERATURAS			
Existe método para o controle de tempo e temperatura.			
Aquecimento adequado dos alimentos preparados.			
Resfriamento adequado.			
Descongelamento realizado de forma adequada.			
Tempo adequado entre o preparo e a distribuição.			
SOBRAS			
Estocagem adequada em recipiente fechado e sob refrigeração.			
Reaquecimento adequado com temperatura controlada.			
NOTA: (*) não se aplica			

CAMPO C – PONTUAÇÃO DA ESCOLA		
CLASSIFICAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA	PONTUAÇÃO	RESULTADO OBTIDO
INADEQUADA	0-50%	
REGULAR	51-75%	
ADEQUADA	76-100%	
CAMPO D – OBSERVAÇÕES		

Mossoró, ____ de _____ de _____.

FELIPE VERÍSSIMO DE LIMA
(PESQUISADOR)

PROF. DR. JEAN BERG ALVES DA SILVA
(ORIENTADOR)