

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIENCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

**Análise microbiológica de mãos de manipuladores de um Frigorífico
Matadouro**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Roque Fernando Pinheiro Bica

**Itaqui, RS, Brasil
2013**

Roque Fernando Pinheiro Bica

**Análise microbiológica de mãos de manipuladores de um Frigorífico
Matadouro**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Miriane Lucas Azevedo

Itaqui, RS, Brasil
2013

Roque Fernando Pinheiro Bica

**Análise microbiológica de mãos de manipuladores de um Frigorífico
Matadouro**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em **Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: ____/____/____.
Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a Miriane Lucas Azevedo
Orientador
Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CTA

Prof^a. Msc. Paula Fernanda Pinto da Costa
Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CTA

Prof^a. Msc. Joice Trindade Silveira
Curso de Nutrição – Nutr.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus amados pais, irmãos e namorada, maiores incentivadores e que estiveram sempre ao meu lado apoiando, dando força e incentivando para que eu jamais desistisse.

AGRADECIMENTO

A Prof^a. Dr^a. Miriane Lucas Azevedo pela orientação e pelo apoio para que eu realizasse o projeto de pesquisa.

A Técnica do laboratório de biologia Bióloga Msc. Franciele Cabral Pinheiro, pela ajuda nas análises microbiológicas.

A empresa que cedeu o espaço para que pudesse coletar as amostra e realizar o trabalho.

Aos professores, minha eterna gratidão pelos ensinamentos durante todo o curso em todas as etapas.

Aos meus colegas de trabalho pela inesgotável paciência e apoio.

A todos os colegas de curso pelo convívio e pelos momentos de amizade.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa.

EPÍGRAFE

A crença profunda em algo permite, a qualquer um, adquirir uma força imensa e superar a si mesmo.

Soichiro Honda

RESUMO

Análise microbiológica de mãos de manipuladores de um Frigorífico Matadouro

Autor: Roque Fernando Pinheiro Bica

Orientador: Prof^a Dr^a Miriane Lucas Azevedo

Itaqui, 29 de abril de 2013.

A população brasileira está sempre na busca por alimentos cada vez mais seguros e com qualidade higiênica sanitária. Os alimentos carecem de manipulação para o seu preparo para consumo, esse preparo envolve a ação manipuladores que em certo momento pode ser o agente contaminante do alimento. Em face disto, este trabalho teve por objetivo analisar mãos de manipuladores de um frigorífico matadouro, quanto à qualidade da higienização de suas mãos. Durante o processo de abate de bovinos é indispensável que os manipuladores entrem em contato com a carne, esse contato direto pode promover a contaminação do produto final pelo próprio manipulador, por isso é de fundamental importância a prevenção contra contaminação de organismos que possam promover toxinfecções em seres humanos através do alimento. Os microrganismos mesofilos totais, são indicadores de higiene relatados por vários autores na bibliografia brasileira. Os mesofilos totais são microrganismos que possuem uma ampla variedade de microrganismos que se desenvolvem em uma faixa de temperatura de 20 a 40 °C. A metodologia aplicada baseou-se em coleta de amostras através de esfregaço com *swab* nas mãos de seis manipuladores, após os mesmos terem realizado os procedimentos de higienização das mãos, as análises foram realizadas seguindo métodos estabelecidos pela IN 62 do MAPA. Os resultados encontrados para mesofilos totais foram insatisfatórios onde a maior contagem atingiu $1,05 \times 10^4$ UFC/mão, número considerado alto. A higiene realizada pelos manipuladores foi eficiente, mas mesmo assim é necessário que a empresa implante uma ferramenta de Boas Práticas de Fabricação para que manipuladores recebam treinamento adequado de higiene e haja um controle efetivo da higienização dos manipuladores.

Palavras-chave: alimento; carne; higiene; microrganismos.

ABSTRACT

Microbiological analysis of the hands of manipulators a refrigerator Slaughterhouse

Author: Roque Fernando Pinheiro Bica

Advisor: Prof^a Dr^a Miriane Lucas Azevedo

Itaqui, April 29, 2013.

The Brazilian population is always in search of food increasingly safe and hygienic quality health. The lack of food handling to its preparation for consumption, this preparation involves the action handlers that at one point may be the contaminant of food. On the face of it, this paper aims to analyze the hands of manipulators fridge slaughterhouse, and the quality of sanitizing your hands. During the process of slaughter cattle is essential that the handlers come into contact with meat, this direct contact can promote contamination of the final product by the handler, so it is crucial to preventing contamination of organisms that can promote intoxications in humans through the food. The mesophilic microorganisms, hygiene indicators are reported by several authors in Brazilian literature. The microorganisms that are mesophilic have a wide variety of microorganisms that thrive in a temperature range from 20 to 40 ° C. The methodology was based on sampling by swab smear with hands six handlers after they have performed the procedures for hand hygiene, the analyzes were performed following methods of IN 62 MAPA. The results were unsatisfactory for total mesophyll where the highest score reached 1.05×10^4 UFC/hand, a number considered high. Hygiene held by handlers was efficient, but it is still necessary that the company deploy a tool of Good Manufacturing Practices for handlers that receive adequate training of Hygiene and there is effective control of the hygiene of food handlers.

Keywords: food, beff, hygiene; microorganisms.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Análise Microbiológica de mãos de manipuladores para presença de Mesofilos totais	26
---	----

LISTA DE SIGLAS

UNIPAMPA – Universidade Federal do Pampa

ANVISA– Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

RIISPOA – Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Estrutura de higiene em matadouro frigorífico.....	16
2.2 Manipuladores como fontes de contaminação	17
2.3 Prevenção à contaminação de alimentos por manipuladores	19
2.3.1 Lavagem das mãos	20
2.4 Microrganismos Indicadores.....	21
2.4.1 Mesófilos totais.....	21
2.5 Meios de cultura	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Material.....	23
3.2 Meios de cultura	23
3.3 Métodos.....	23
3.3.1 Coleta das amostras	23
3.3.2 Mesófilos totais.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5 Considerações Finais	28
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1 INTRODUÇÃO

A alimentação é uma das condições básicas para promoção e manutenção da saúde, desde que a produção e a manipulação dos alimentos ocorrem dentro de padrões higiênico-sanitários satisfatórios. A deficiência no controle desses padrões é um dos responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos. Sendo assim, uma alimentação de qualidade pode ser assegurada com a educação e treinamento adequado dos manipuladores. (OLIVEIRA, 2003)

As doenças alimentares constituem uma das principais preocupações ao nível da saúde pública, principalmente nos grupos mais vulneráveis como crianças e idosos. A maioria dos microrganismos leva ao aparecimento de toxinfecções alimentares quando ingeridos ou quando as suas toxinas estão presentes nos alimentos. Contudo, os alimentos não costumam apresentar alterações no seu cheiro, sabor ou aspecto (PORTAL DE SAÚDE PÚBLICA 2013).

As mãos podem veicular vários microrganismos importantes, dependendo do tipo de alimento manipulado ou do momento da coleta das amostras para análise (SILVA JUNIOR, 1995). A pele das mãos apresenta uma população de microrganismos que pode ser diferenciada em flora residente e flora transitória. A flora microbiana da pele pode ser reduzida pela lavagem com água e sabão ou detergente (MAKI, 1978 apud RADDI, 1988)

Dos Microrganismos patogênicos importantes para ocorrência de DTAs (Doenças Transmitidas por Alimentos), podemos citar alguns que são pesquisados nos exames de culturas de mãos, como os coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* indicadores de presença de material nasal ou orofaríngeo, *Escherichia coli*, os quais são indicadores de contaminação fecal, *Bacillus cereus*, indicador de contaminação ambiental, e *Pseudomonas aeruginosa*, indicador de utilização inadequada de produtos anti-sépticos. (SILVA JUNIOR, 1995).

Bactérias patogênicas que se destacam na maioria das infecções e toxinfecções alimentares como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, Clostrídium Sulfito Redutor e *Staphylococcus aureus* estão entre os principais microrganismos que causam preocupação em relação a carnes cruas e processadas e a ambientes de manipulação de alimentos. (BOULOS, 1999).

Segundo Silva Junior (1995), a quantidade de microrganismos presentes na carne crua é muito superior a presente nas mãos dos indivíduos. Existe, inclusive,

uma indicação de que luvas existem para evitar que os manipuladores se contaminem com os produtos "in natura", podendo ocorrer infecções graves por *Pseudomonas auruginosa* devido à manipulação de carnes cruas ou peixes crus, como é o caso do *Vibrio vulnificus*.

Para manipulador de gêneros alimentícios, são de particular importância as doenças que se transmitem através de descarga da boca, nariz, ouvidos, e outras aberturas naturais do corpo, porque esta forma de transmissão está estreitamente relacionada com os hábitos higiênicos deste manipulador (RIEDEL, 2005).

A quantidade e os tipos de microrganismos mesófilos totais presentes em um produto alimentício oferecem um meio de avaliar o grau de saneamento utilizado durante o processo. Se os resultados obtidos para

Dentro desse contexto o objetivo desse trabalho foi avaliar o grau de contaminação por mesófilos totais em mãos de manipuladores de um frigorífico matadouro localizado em Itaqui, RS. A importância do conhecimento do grau de higienização das mãos desses manipuladores se justifica pela necessidade de se obter produtos sem carga microbiana ou com carga microbiana reduzida ao ponto de não oferecer riscos a saúde humana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Estrutura de higiene em matadouro frigorífico

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (1952), entende-se por "matadouro-frigorífico" o estabelecimento dotado de instalações completas e equipamentos adequados para o abate, manipulação, elaboração, preparo e conservação das espécies de açougue sob variadas formas, com aproveitamento completo, racional e perfeito, de subprodutos não comestíveis; possuirá instalações de frio industrial.

Os procedimentos de abate, considerando as exigências higiênico-sanitárias do processo e as regulamentações oficiais de instalações, equipamentos e operações de abate dos animais de açougue, devem obedecer ao seguinte fluxo de abate para

bovinos: Insensibilização, sangria, esfola, evisceração, serragem, inspeção, toaleta, lavagem e armazenamento (PINTO, 2008).

Pinto (2008), descreve a sala de matança como uma instalação estratégica no estabelecimento de abate, com respeito às exigências higiênico-sanitárias do processo de abate. Nesse ambiente, os tecidos comestíveis, expõem-se diretamente a fatores de contaminação inerentes ao processo de abate, se medidas preventivas não forem programadas no controle da qualidade da carne e miúdos.

Segundo Riedel (2005), para efeito de inspeção sanitária de alimentos, qualquer pessoa que entra direta ou indiretamente em contato com substâncias alimentícias é considerada manipulador.

O abastecimento de água potável tem extrema importância para a indústria de alimentos, os quais devem dispor de água potável em quantidade suficiente para o desenvolvimento de suas atividades e que atenda os padrões fixados pela legislação brasileira vigente. A manutenção de tais padrões implica monitoramento a ser executado pelo estabelecimento e verificação pela IF (Inspeção Federal), tendo como referência os parâmetros da citada legislação (BRASIL, 2005).

Os lavatórios devem ser instalados à saída dos vestiários, sanitários e ainda, estrategicamente, à entrada das seções da indústria e devem dispor de pias com torneiras, com fluxo contínuo de água tépida, a temperatura mínima de 43 °C, e sabão líquido, para lavagem adequada das mãos e antebraços. A higienização das mãos não desobriga o uso subsequente de toalha de papel não reutilizável. Cestos com tampas articuladas, colocados após a lavagem das mãos, devem ser previstos para o recebimento de toalhas de papel utilizada (BRASIL, 2005).

2.2 Manipuladores como fontes de contaminação

O indivíduo suscetível pode contaminar-se através de outra pessoa, ou indiretamente através da água, solo, ar e alimentos. Nessa cadeia epidemiológica, o alimento é um carreador de contaminação, que por sua vez pode receber uma contaminação diretamente das vias de eliminação do homem e dos animais; pode receber também os microrganismos patogênicos do homem indiretamente através dos artrópodes ou vetores, que possam levar a contaminação do lixo ou do ambiente

contaminado; ou ainda, os alimentos podem receber uma contaminação presente no solo (terra), água e ar, sem a presença do ser humano (SILVA JUNIOR, 1995)

A transmissão é feita pelo próprio homem direta ou indiretamente, se estiver doente ou se for portador. Por isso devem-se tomar os devidos cuidados no combate a contaminação (prevenção), outro meio de transmissão é o ambiental. Os principais meios de transmissão pelo homem são: fezes, nariz, boca, mãos e ferimentos (SILVA JUNIOR, 1995).

Segundo Silva Junior (1995), é com as mãos que os alimentos são preparados, guardados e distribuídos. Se elas estiverem sujas, mal lavadas, com cortes ou machucadas, portando alergias ou até mesmo com unhas compridas, serão veículo fácil para transmissão de microrganismos e parasitas intestinais aos alimentos.

Segundo Riedel (2005), os manipuladores estão diariamente em estreito contato com muitas pessoas, as quais podem estar infestadas de microrganismos causadores de doenças, de forma aparente, como no caso de uma gripe, ou de forma inaparente, como no caso de portadores de febre tifóide.

Segundo Maki, citado por Raddi (1988), estudando a veiculação microbiana pelas mãos, verificou que 11% do pessoal amostrado transportava *S. aureus*, sendo este carreamento tipicamente transitório. Os portadores nasais podem, por meio das mãos, desempenhar papel importante na disseminação do microrganismo, principalmente através dos alimentos por eles manuseados.

Embora a contaminação dos alimentos possa ter várias origens, do plantio ao consumidor, a sua inadequada manipulação durante o processo e a distribuição é uma das principais causas de disseminação de enfermidades de origem alimentar (FERREIRA, 2006).

Segundo Abreu e seus colaboradores (2011), em estudo realizado com manipuladores de alimentos, considerou a mão, como um todo, principal veículo de contaminação por agentes infecciosos, pois toda superfície das mãos analisadas apresentou alto índice de contaminação por coliformes termotolerantes.

2.3 Prevenções à contaminação de alimentos por manipuladores

A maneira mais eficiente de se evitar a contaminação de alimentos é pela prevenção, um dos mecanismos mais eficientes de defesa de contaminação por manipuladores é através da higiene dos mesmos. A higiene pessoal não só previne a contaminação do alimento como também melhora a condição de vida do ser humano (SILVA JUNIOR, 1995).

Segundo Prata (2001), a higiene de pessoal é a de mais difícil manutenção, principalmente devido à falta de educação fundamental e treinamento aplicado, ao excesso de trabalho, à alta rotatividade e à baixa remuneração.

Geralmente, neste meio, a mão de obra é totalmente desqualificada ou despreparada para o exercício funcional dentro de uma indústria de alimentos. Isto decorre basicamente da falta de educação fundamental, com prevalência do semi-analfabetismo e escolaridade incompleta (GERMANO, 2003).

No entanto, o simples ato de lavar bem as mãos antes de iniciar a manipulação de alimentos e, após qualquer interrupção (principalmente se for trocar cestos de lixo ou ir ao banheiro) previne casos de contaminação por manipuladores.

A maioria das pessoas que não tem um grau apropriado de asseio pessoal, ou que padecem de determinadas enfermidades ou estado de saúde ou se comportam de maneira inapropriada, podem contaminar os alimentos e transmitir enfermidades aos consumidores através dos alimentos produzidos na indústria, por estes motivos a Higiene Pessoal é fundamental em qualquer local onde ocorra à manipulação de alimentos (GERMANO, 2003).

O trabalhador é o elemento de maior importância, pois é responsável por elaborar e implantar o sistema de Boas Práticas de Fabricação (BPF). As verificações do programa devem ser realizadas por funcionários que trabalham diretamente com vários processos, treinados nas práticas de processamento e controle de processos que estão diretamente relacionados com suas responsabilidades de trabalho (ANDREOTTI, et.al. 2003).

Boas Práticas são normas de procedimentos para atingir um determinado padrão de identidade e qualidade de um produto e/ou um serviço na área de alimentos, cuja eficácia e efetividade devem ser avaliadas através de inspeção e/ou investigação (SILVA JUNIOR, 1995).

Segundo Silva Junior (1995), Manual de Boas Práticas integrado com os Princípios do Sistema APPCC, define as informações sobre todas as situações chamadas Pontos Críticos, nas quais os perigos estariam presentes nos alimentos.

A determinação dos Pontos Críticos de Controle enfatiza de modo geral ou específico todas as situações de risco as quais os alimentos estão expostos, eles são fundamentados nos critérios de segurança em relação ao tempo, temperatura, pH, Aw, higiene ambiental, higiene pessoal e higiene dos alimentos.

2.3.1 Lavagem das mãos

A lavagem das mãos deve ser frequente e de forma correta. Deve ser realizada num lavatório de uso exclusivo para esse fim, com comando automático. Junto a este deverá estar disponível um sabonete líquido bactericida (ou um sabonete líquido e um desinfetante), assim como toalhas de papel descartáveis. O lavatório deverá ser provido de água quente e fria (SILVA, 2006).

Conforme Silva Junior, (2001), para ter uma eficiente limpeza e higienização das mãos algumas recomendações devem ser seguidas segundo descrito abaixo:

- Molhar muito bem as mãos e antebraços com água corrente, quente e potável;
- Ensaboar bem as mãos com o sabão líquido, lavando bem os espaços interdigitais, as palmas das mãos, os polegares e os antebraços;
- Lavar as unhas com escova própria (que deverá ser mantida limpa e seca entre as utilizações);
- Passar por água corrente, quente e potável para remover todo o sabão;
- Aplicar nas mãos anti-sépticos adequados, utilizando recipientes dosadores específicos para essa finalidade;
- Secar as mãos ao ar, não permitindo o contato com o uniforme para secá-las
- Após o uso da escovinha deve-se enxaguá-la e acondicioná-la dentro de um recipiente com solução anti - séptica clorada ou na solução anti - séptica para as mãos.

Segundo Silva Junior (2001), o uso de escovas para as unhas é necessário, porém, o mesmo cita que, se a escova não for bem enxaguada e não permanecer

imersa em solução anti-séptica (cloro, álcool-iodado ou álcool 96°), poderá ser um veículo de contaminação entre os manipuladores.

2.4 Microrganismos Indicadores

Segundo Forsythe (2002), o termo microrganismo indicador pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismos, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente é associado a microrganismos de origem intestinal, porém outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações. O termo indicador foi sugerido por Ingram em 1977 para um organismo marcador cuja presença indicasse a possível presença de um patógeno ecologicamente similar. Os microrganismos indicadores usualmente utilizados são: Coliformes, *E. coli*, enterobacterias, estreptococos fecais, mesófilos totais e *Staphylococcus aureus*.

2.4.1 Mesófilos totais

Os mesófilos são microrganismos que apresentam uma temperatura ótima de crescimento entre 25 e 40 °C. Os organismos que se adaptaram para viver no corpo de animais possuem uma temperatura ótima de crescimento próxima aquela do seu hospedeiro. A temperatura ótima de crescimento de muitas bactérias patogênicas fica em torno de 37 °C, e portanto, as estufas empregadas em laboratórios clínicos utilizam normalmente essa temperatura. Entre os mesófilos encontramos a maioria dos organismos que comumente degradam os alimentos que são patogênicos. (TORTORA, 2005).

A quantificação de microrganismos mesófilos visa verificar a contaminação geral de um alimento e tem sido usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também uma idéia sobre seu tempo útil de conservação (FRANCO, 1996).

Em termos laboratoriais, a execução da técnica de contagem de Mesófilos é bem simples, consistindo no plaqueamento de alíquotas da amostra,

homogeneizada e diluída, em meio de cultura padrão como o "Plate Count Agar" (PCA). As placas são então, incubadas em condições de tempo e temperaturas adequados, para que haja o desenvolvimento das colônias que serão enumeradas com o auxílio de contadores (SANT'ANA, 2002).

2.5 Meios de cultura

O material nutriente preparado em laboratório para crescimento de microrganismos é denominado de meio de cultura. Algumas bactérias podem crescer normalmente em qualquer meio de cultura, outras necessitam de meios especiais (TORTORA, 2005).

Os meios seletivos são utilizados para o isolamento de um grupo particular de microrganismos, ou seja, são meios de cultura acondicionados de substâncias químicas que irão proporcionar o desenvolvimento dos microrganismos de interesse e vão inibir o desenvolvimento dos microrganismos acompanhantes (VERMELHO, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia do Campus Itaqui da Universidade Federal do Pampa, Itaqui/RS.

3.1 Material

Foram utilizados neste estudo amostras oriundas de *swab test* realizados em seis manipuladores de um frigorífico localizado na cidade de Itaqui/RS. Todo o material utilizado foi esterilizado por autoclavagem a 121 °C por 30 minutos.

3.2 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados para desenvolvimento desta pesquisa foi o PCA.

O PCA (*Plate Counter Agar*), é um meio de cultura utilizado para cultivo de mesófilos totais, sua utilização altamente empregada em pesquisas de microrganismos indicadores. O PCA utilizado na pesquisa foi do fabricante “Himedia”, que possui na sua formulação caseína hidrolisada, extrato de levedura, dextrose e Agar. Para preparo das placas de petri foi utilizado 25,38g do meio de cultura “himedia”, para 1080 mL de água destilada, autoclavagem a 121 °C por 15 minutos e resfriamento a temperatura ambiente até solidificação. O meio de cultura PCA foi vertido em placas de Petri na proporção de 20 mL por placa.

3.3 Métodos

3.3.1 Coleta das amostras

As amostras foram coletadas de manipuladores do frigorífico, após os mesmos terem executado os procedimentos de higienização das mãos, no momento em que os mesmos iniciavam os trabalhos na indústria.

A coleta foi realizada com “*Swab test*” estéril, embebido com água peptonada 0,1%, foi realizado um esfregaço nas mãos de 06 manipuladores escolhidos ao

acaso, em zig zag na palma e na parte superior da mão, entre os dedos e ponta dos dedos e unhas .

Após o esfregação os Swabs forão acondicionados em tubos de ensaio identificados contendo 10 mL de água peptonada 0,1%.

Logo após realizadas as coletas, os tubos foram acondicionados em caixa isotérmica com gelo, para o transporte até o laboratório. No laboratório foi realizado uma homogeneização das amostras para posterior diluição em 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em triplicata para cada amostra. Após a homogeneização foi, considerado como a diluição inicial de 10^{-1} . A seguir, 1 mL desta primeira diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de água peptonada, obtendo-se assim a diluição de 10^{-2} , e sucessivamente foram obtidas, pelo mesmo procedimento, as diluições 10^{-3} , as quais foram utilizadas em todas as determinações microbiológicas.

3.3.2 Mesófilos Totais

Primeiramente foram preparadas as placas de Petri estéreis. Essas foram preparadas com cerca de 20 mL de ágar padrão (PCA) fundido e resfriado a temperatura em torno de 45° C. Após a homogeneização e solidificação do ágar em temperatura ambiente.

Foi utilizado o método diluição em placas descrito por Vermelho (2007), que a partir da amostra determinada, faz-se uma homogeneização inicial, e a partir desta são preparadas diluições sucessivas em tubos, no caso foram feitas 3 diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , em triplicata, logo após as diluições tomou-se, 100 µL, das diluições, o qual foi utilizado o método de espalhamento em superfície de meio já solidificado, com auxílio da alça de Drigalski, após secagem, as placas foram incubadas, invertidas a 35° C \pm 2 por 48h para contagem de microrganismos heterotróficos mesófilos.

Para contagem, foram consideradas placas que possuíam um número considerado significativo de colônias, no método em questão, que para bactérias, em geral, é de no mínimo 20 – 30 colônias e no máximo 200 – 300 colônias. É escolhida a contagem da placa onde o número é mais apropriado e feita à média das treplicas da mesma serie.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme Lakatos e Marconi (1991) pesquisa exploratória são as investigações de pesquisa baseado na experiência, onde o objetivo é formular questões ou um problema com a tripla finalidade de desenvolver hipóteses, aumentar a familiaridade do pesquisador com o ambiente, fato ou fenômeno para a realização da pesquisa futura.

A simples descoberta, por meio de uma análise de presença-ausência, de determinados organismos conhecidos como causadores de doenças transmitidas por alimentos (ex. *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* e *Vibrio parahaemolyticus*) não indica necessariamente uma ameaça à saúde pública (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

A Circular Nº 175, de 16 de maio de 2005, instrui que os operários devem lavar as mãos e antebraços à entrada e saída das seções, a intervalos regulares e sempre que for necessário. Operários que trabalham na matança devem lavar mãos e antebraços tão freqüentemente quanto necessário e, em determinados setores, protegidos com avental plástico tão envolvente quanto à possibilidade de se sujarem com sangue (BRASIL, 2005).

A resolução Nº 216, de 15 de setembro de 2004 regulamenta técnicas de boas práticas no serviço de alimentação, dispendo de vários critérios para padronização do mesmo. Complementando esta resolução existem portarias da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que estabelecem valores aceitáveis de microorganismos nos alimentos, mas quando estes ultrapassam seus valores tornam-se vias de toxi-infecções, o que é inadmissível quando estes alimentos são destinados a pessoas (BRASIL, 2004).

Para Andrade (2008) citado por Luciano (2012), determinou faixas de contagens que pudessem servir de orientação para o estabelecimento das condições higiênico-sanitárias de manipuladores. Foram estabelecidas as seguintes faixas, expressas em UFC/mão: para mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, e coliformes totais: Faixa I – até 10^3 UFC/mão e Faixa II – entre 10^3 e 10^4 UFC/mão.

O estudo realizado observou crescimento no meio PCA para Mesófilos totais. Pode-se observar na Tabela 01 que os resultados são bastante expressivos para as

amostras 01, 03, 04 e 05. Também podemos observar que em 02 das 06 amostras não obtiveram crescimento significativo para mesófilos totais.

Tabela 01: Análise Microbiológica de mãos de manipuladores para presença de Mesofilos totais (Unipampa – Itaqui/RS, 2013).

Amostras	Resultados UFC/mão	Referência
01	$9,33 \times 10^3$	
02	-	
03	$7,33 \times 10^3$	10×10^2 UFC/mão
04	$1,05 \times 10^4$	Limite aceitável segundo APHA (1992)
05	$9,66 \times 10^2$	
06	-	

Manipuladores 02 e 06 obtiveram valores abaixo de 20 unidades formadoras de colônia, que pelo método aplicado ficam abaixo da faixa de contagem. Acredita-se que a redução na contagem dos manipuladores 02 e 06 deve-se ao fato dos mesmos atuarem na área nomeada de “área limpa” do frigorífico os demais analisados atuam na área denominada de “área suja” que é a sangria, esfola e evisceração. O resultado apesar de não ter alcançado altos índices de contaminação, ainda assim é considerado insuficiente para um bom índice de higienização.

Os resultados encontrados na pesquisa exploratória evidenciam o quanto é importante para manipulação de alimentos a higiene de seus manipuladores. Das seis amostras analisadas, apenas duas obtiveram baixa contagem microbiana, podendo ser considerada adequadas para manipulação de alimentos.

Segundo Apha (2001), para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos na palma das mãos de manipuladores, os valores estabelecidos pela legislação (10×10^2 UFC/mão) indicam condições higiênico-sanitárias satisfatórias para os manipuladores da que obtiverem valores inferiores.

Segundo Sant'ana (2002), o método de contagem de mesófilos, é um processo bastante susceptível a erros, levando-se em consideração que: os microrganismos estão arranjados em pares, tétrades, cadeias e cachos, conseqüentemente o número de colônias que aparecem na placa não correspondem ao número de células individuais presentes; quando muitas diluições precisam ser

plaqueadas podem ocorrer erros, levando a um falso resultado positivo; o modo de leitura e a interpretação dos resultados, são muito subjetivos e podem variar de acordo com o analista; algumas colônias denominadas invasoras se espalham pela placa dificultando a contagem e a expressão do resultado final.

Em estudo realizado por Almeida (1995), mostrou que as mãos dos manipuladores das diversas seções de preparo dos pratos cárneos atingiram valores médios próximos para a contagem de aeróbios mesófilos e anaeróbios facultativos, embora valores máximos mais elevados fossem observados nas mãos dos manipuladores da seção de cocção, ou seja, $1,3 \times 10^7$ UFC/mão. Este fato demonstra que mesófilos podem ser diferenciados no nível de contaminação pelo setor do manipulador, indicando maior ou menor nível de contaminação.

Em estudo realizado por Tomich (2005), verificou que 59% das amostras das mãos dos funcionários foram observadas contagem de mesófilas superior a 105 UFC/mão, além da presença de coliformes totais em 93,1% das amostras, de coliformes fecais em 34,5% e de *Staphylococcus* coagulase positiva em 46,7%. Estes resultados indicam hábitos anti-higiênicos por parte dos manipuladores de alimentos, bem como processo de higienização das mãos inadequado, uma vez que 70% das amostras foram coletadas após a higienização das mesmas. Se comparar com os dados acima, pode-se observar que a higienização das mãos dos funcionários da indústria em estudo não foi eficiente, uma vez que apresentou níveis parecidos para contagem de mesófilos.

Segundo Samulak (2011), que após avaliar o manipulador, o ambiente e o produto, verificou que as mãos dos manipuladores, a qual obteve valores de $<1,0 \times 10^0$ UFC.mL⁻¹ para mesofilos aeróbios, <30 NMP.mL⁻¹ para coliformes totais e $<1,0 \times 10^0$ UFC.mL⁻¹ para *S. aureus* considerando satisfatórias e em boas condições higiênicas.

Almeida (1995) pode observar que a higienização das mãos conduziu a resultados variáveis de acordo com cada manipulador envolvido, sendo que um dos manipuladores da seção de cocção apresentou uma redução da contagem de aeróbios mesófilos nas mãos mais satisfatória que os demais, por volta de 2,6 cicloslog. Este fato pode presumir a necessidade de um treinamento para padronização do processo de higienização das mãos, procedimento esse que hoje pode ser resolvido com a implantação da ferramenta de Boas Práticas de Fabricação (BPF).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A higiene realizada pelos manipuladores de alimentos pode ser considerada ineficiente, pois apresentou níveis insatisfatórios de higienização. A pesquisa de mesofilos totais encontrou valores, em níveis semelhantes ao correlacionado com estudos encontrados na literatura e precisa melhorar a higienização para diminuir o nível de contaminação.

O local de atuação do manipulador dentro do organograma da Indústria é considerado por vários autores como recontaminante. Por isso é imprescindível que se observe o local de trabalho de cada manipulador e que se estipule uma rotina especial de lavagem das mãos para descontaminação.

Os manipuladores apresentarem resultados insatisfatórios para higiene das mãos. É recomendável que a empresa adote ferramentas de Boas Práticas de Fabricação e que a mesma proporcione treinamentos, desenvolvendo ainda mais a qualidade da higiene dos manipuladores de alimentos, visto que, é de total importância para garantir a saúde dos consumidores dos produtos alimentícios.

6 Referencias Bibliográficas

ABREU, E.S. Análise microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos do município de Santo André, **Revista Univap**, São José dos Campos, v. 17, n. 30, 2011.

ALMEIDA, R. C. de C., et al, Avaliação e controle da qualidade microbiológica demãos de manipuladores de alimentos, **Saúde Publica**, 29, Brasil, 1995.

ANDRADE, K. K. S. et al, **Contagem de mesófilos e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em preparos de guaraná do amazonas**, disponível em <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0059-1.pdf> acessado em 14 de abril de 2013.

ANDREOTTI, A.; BALERONI, F.H.; PAROSCHI, V.H.B.; PANZA, S.G.A.; Importância do treinamento para manipuladores de alimentos em relação à higiene pessoal. **Revista de Iniciação Científica – Cesumar**. Maringá, v.5, n.1, p. 29-33, jan/jun. 2003

APHA – **American Public Health Association. Committee on Microbiological for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington American Public Health Association, 2001. 676p.

BOULOS, E. M. S., Bunho R. M., **Manipuladores de alimentos: um fator de risco: Guia de leis e normas para profissionais e empresas na área de alimentos**. 1ª ed. São Paulo: Varela; 1999. p 175.

BRASIL, Circular nº 175 de 16 de maio de 2005. Dispõe sobre **Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole (Versão Preliminar)**, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento,. Brasília, 2005. Disponível em: www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/.../Circular%20176.doc.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre **regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação**. DOU - Diário Oficial da União. Poder Executivo, Brasília, 16 set. 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre **regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. DOU - Diário Oficial da União. Poder Executivo, Brasília, 16 set. 2004.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa n 62 que dispõe sobre Oficializar os **Métodos Analíticos Oficiais para Análises**

Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, Brasília, 2003.

BRASIL, **regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA**, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Rio de Janeiro, 1952.

CODEX ALIMENTARIUS, **Higiene dos alimentos – textos básicos**, Organização Pan-Americana da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Food and Agriculture Organization of the United Nations. – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2006. 64 p.

FERREIRA, S. M. S. **Contaminação de alimentos ocasionada por manipuladores** Monografia (Especialização em Qualidade em Alimentos)-Universidade de Brasília, Brasília, 2006, disponível em: <http://bdm.bce.unb.br/handle/10483/480>, acessado em 14/04/2013.

FORSYTHE, S. J., **Microbiologia da segurança alimentar**, Porto Alegre: Artmed, 2002, 424p.

FRANCO B. G. D. M., Landgraf M., **Microbiologia de Alimentos**, São Paulo: Atheneu, 1996, 182 p.

GERMANO, M. I. S.; **Treinamento de manipuladores de alimentos: fator de segurança alimentar e promoção da saúde**, São Paulo: Varela, 2003, 246 p

LAKATOS, E. M. & MARCONI, M. de A., **Fundamentos de Metodologia Científica**. - 3ª ed. - São Paulo: Atlas, 1991, p.188

LUCIANO, P. R. S. et. al., **Avaliação microbiológica das condições higiênico-sanitárias de restaurantes da região metropolitana de Campinas**, IN: Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 6 ed., 2012, Jaguariana, SP. Disponível em: http://www.cnpma.embrapa.br/eventos/2012/ciic/cd_anais/Artigos/re12242.pdf

MARQUES, S.C.; SANTOS, A.L.; PICCOLI, R.H., Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes em mãos de manipuladores em uma feira de produtos caseiros e artesanais no município de Lavras, MG. **Hig aliment**. Lavras, 2007; 21: 23-7.

OLIVEIRA, A. de M.; et. al., Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Higiene Alimentar**, nov./dez., vol. 17, nº 114/115, p.12-19, 2003

PINTO, P. S. de A., **Inspeção e higiene de carnes**, Viçosa: Ed. UFV, 2008, 320 p.

Portal da Saúde Pública, Ministério da Saúde, Brasil. Disponível em: www.portalsaude.saude.gov.br, acessado em 14 de abril de 2013.

PRATA, L. F.; FUKUDA, R. T. **Fundamentos de higiene e inspeção de carnes**. v. I Funep: Jaboticabal, 2001. 326p.

RADDI, M. S. G. et al. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde públ.**, S. Paulo, 22:36-40, 1988.

RIEDEL, G., **Controle Sanitário de Alimentos**, São Paulo: Atheneu, 2005. 455p.

SAMULAK, R. L. et al, Condição higiênico - sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica de embutidos no estado do Paraná, **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, V 05, Ponta Grossa, 2011.

SANT'ANA, A. S.; Caetano da C.; Denise R. P. A., Comparação entre os métodos rápidos Simplate^RTPC- CI e Petrifilm^R AC e os métodos convencionais de contagem em placas para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes, **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.22 n.1 Campinas, Jan./Apr. 2002.

SILVA JUNIOR, E. A., **Manual de controle higiênico sanitário em serviços de alimentação**, São Paulo: Varela, 1995. 625p

SILVA, C. I.; **Código de Boas Práticas de Higiene e Boas Práticas de Fabricação**. Portal de Saúde Pública. Braga – Portugal. 2006. Disponível em: <http://www.saudepublica.web.pt/TrabClaudia/HigieneAlimentar_BoasPraticas/HigienAlimentar_CodigoBoasPraticas1.htm#Definições>. Acesso em 23 abril 2013.

TOMICH, R. G. P. et. al. **Metodologia para avaliação das boas práticas de fabricação em indústrias de pão de queijo**, 2005, disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/2119>, Acesso em: 14/04/2013.

TORTORA, G. J. et. al., **Microbiologia**, V. 8, Porto Alegre: Artmed, 2005, 920p.

VERMELHO A. B. et al, **Práticas Microbiológicas**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 239p.