



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GIOVANNA CAROLINE GALO MARTINS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS TECIDOS TÊXTEIS
(PANO DE PRATO) UTILIZADOS NOS AÇOUGUES DE
LONDRINA E REGIÃO**

Londrina
2021

GIOVANNA CAROLINE GALO MARTINS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS TECIDOS TÊXTEIS
(PANO DE PRATO) UTILIZADOS NOS AÇOUGUES DE
LONDRINA E REGIÃO**

Produtos apresentados ao Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Wilmar Sachetin Marçal

Londrina
2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Martins, G.C.G Martins, Giovanna Caroline Galo .
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS TECIDOS TÊXTEIS (PANO DE PRATO) UTILIZADOS NOS AÇOUGUES DE LONDRINA E REGIÃO / Giovanna Caroline Galo Martins. - Londrina, 2021.
70 f. : il.

Orientador: Wilmar Sachetin Marçal .
Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2021.
Inclui bibliografia.

1. consumidor - Tese. 2. manipulação - Tese. 3. tecidos - Tese. 4. resistência - Tese. I. Marçal , Wilmar Sachetin . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

GIOVANNA CAROLINE GALO MARTINS

Produtos apresentados ao Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Wilmar Sachetini Marçal
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Gerson Nakazato
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Luiz Álvaro Monteiro Junior
Instituto Federal Catarinense - IFC

Prof. Dr. Suelen Tulio de Córdova Gobetti
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, ____ de ____ de ____.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por todas as bênçãos e pessoas que cruzaram e me apoiaram durante todo o caminho, pelos amigos e familiares, estes são toda a minha força.

Aos meus pais, Fernando Martins e Rosane Higemberg e demais familiares que sempre me apoiaram e me incentivaram como nunca a ser uma ótima profissional, ter orgulho da profissão e que me ensinam a sempre sonhar alto e buscar com garra.

Gostaria de agradecer de forma especial à equipe e docentes da Universidade Estadual de Londrina, que mais uma vez me acolheram e me aceitaram no programa de mestrado profissional.

Ao professor Dr. Gerson Nakazato, pela oportunidade de aprender e vivenciar uma nova experiência dentro da medicina veterinária, e ao professor orientador Dr. Wilmar Marçal que me apoiou e disponibilizou seu tempo para auxiliar em todas as fases deste estudo.

Um agradecimento especial as colegas e mestrandas Jessica Cantarini que me ensinou muito e participou ativamente de todos os meus trabalhos, Isabela Pissinati e Angélica Amorim, por todo o trabalho em equipe, apoio durante os momentos difíceis e parcerias como profissionais na área.

Agradeço também a colega e mestranda Miriam Dimbo, que me acompanhou e ensinou todos os protocolos e processos técnicos, para melhor desenvolver o meu trabalho dentro do Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada CCB – UEL.

Meu muito obrigada, a todos que participaram e me acompanharam durante esta caminhada

Martins, Giovanna Caroline Galo. **Avaliação microbiológica dos tecidos têxteis (pano de prato) utilizados nos açougues de londrina e região**. 2021. 70f. Trabalho de conclusão de curso (mestrado profissional em clínicas veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

RESUMO

Foram apresentados dois produtos finais, separados em capítulos, ao programa de Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina. Os capítulos foram formatados nas normas da “Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal”, sendo o Capítulo I um estudo por meio de questionários, intitulado “Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região”. E o Capítulo II, o projeto de pesquisa, intitulado “Avaliação microbiológica dos tecidos têxteis (pano de prato) utilizados nos açougues de Londrina e Região”. Dentre os problemas encontrados nos setores alimentares, o principal está relacionado a falta de conhecimento e higiene na manipulação, o que pode levar a diversos casos de doenças de origem alimentar. Por ano o estado do Paraná notifica surtos relacionados as doenças transmitidas por alimentos, sendo as bactérias responsáveis por quase 100% dos casos de toxinfecções alimentares. Devido as diversas formas de exposição e manipulação incorreta que o alimento é submetido, o conhecimento prévio dos microrganismos responsáveis pelos casos mais graves de toxinfecções e resistência aos antimicrobianos são fundamentais para a conscientização dos manipuladores sobre higiene pessoal, ambiental e dos utensílios na preparação alimentar. Os resultados apresentados demonstraram que, 72% dos entrevistados não receberam o curso de boas práticas de manipulação e 41% não utilizam os manuais de boas práticas no dia-a-dia, sendo que dentre os estabelecimentos questionados 72% disseram não possuir veterinário responsável ou consultoria sobre segurança e higiene alimentar, além destes resultados, o trabalho realizado no Laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada da Universidade Estadual de Londrina, evidenciou que dos seis estabelecimentos coletados de Londrina e região as 11 amostras apresentaram ótimo crescimento microbiano em ágar MacConkey, selecionados 27 isolados da família Enterobacteriaceae, sendo que 91% apresentaram crescimento em meio de cultura acrescido do antibiótico cefotaxima e 55% com ciprofloxacina. Dentre as espécies identificadas, 40% eram do gênero *Enterobacter*; 15% do gênero *Klebsiella*; 33% dos gêneros *Citrobacter*, *Escherichia* e *Shigella* e 12% dos gêneros *Hafnia*, *Proteus* e *Serratia*. Entre os antibióticos testados de importância na medicina humana, a cefazolina e cefotaxima não apresentaram 100% de eficácia contra as amostras de *E. coli* testadas. Esses resultados indicam a necessidade de maior conhecimento dos microrganismos envolvidos nas principais doenças de transmissão alimentar e os riscos da presença de resistência bacteriana, além de demonstrar a necessidade de maior eficácia no ensino e consultoria em boas práticas de manipulação.

Palavras-chave: Consumidor, Manipulação, Tecidos, Resistência, Saúde.

Martins, Giovanna Caroline Galo. **Evaluation of textile fabrics (dishcloth) used in butchers in Londrina and region.** 2021. 70f. Course conclusion paper (professional master's degree in veterinary clinics) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2021.

ABSTRACT

Two final products, separated into chapters, were presented to the Professional Master's program in Veterinary Clinics at the State University of Londrina. The chapters were formatted in the rules of the "Brazilian Journal of Hygiene and Animal Health", Chapter I being a study through questionnaires, entitled "Level of knowledge of food handlers of animal origin about food safety: Londrina and region". And Chapter II, the research project, entitled "microbiological evaluation of textile fabrics (dishcloth) used in butchers in Londrina and region". Lack of knowledge and hygiene in handling, which can lead to several cases of foodborne diseases. Per year the state of Paraná reports outbreaks related to foodborne diseases, with bacteria responsible for almost 100% of cases of foodborne infections. Due to the various forms of exposure and incorrect handling that the food is subjected to, prior knowledge of the microorganisms responsible for the most serious cases of toxoinfections and resistance to antimicrobials is essential to raise awareness among handlers about personal and environmental hygiene and the utensils in food preparation. The results presented showed that 72% of the interviewees did not receive the course on good handling practices and 41% did not use the manuals of good practices on a daily basis, and among the establishments questioned, 72% said they did not have a responsible veterinarian or consultancy on food safety and hygiene, in addition to these results, the work carried out in the Laboratory of Basic and Applied Bacteriology of the State University of Londrina, showed that of the six establishments collected in Londrina and the region, the 11 samples showed high microbial growth on MacConkey agar, selected 27 isolates from the *Enterobacteriaceae* family, with 91% growing on culture medium plus the antibiotic cefotaxime and 55% with ciprofloxacin. Among the identified species, 40% were of the *Enterobacter* genus; 15% of the genus *Klebsiella*; 33% of the genus *Citrobacter*, *Escherichia*, *Shigella* and 12% of genus *Hafnia*, *Proteus* and *Serratia*. Among the tested antibiotics of importance in human medicine, cefazolin and cefotaxime were not 100% effective against the *E. coli* samples tested. These results indicate the need for greater knowledge of the microorganisms involved in the main foodborne diseases and the risks of the presence of bacterial resistance, in addition to demonstrating the need for greater efficiency in teaching and consulting in good handling practices.

Keywords: Consumer, Manipulation, Dishcloths, Resistance, Health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Características Bioquímicas de Enterobactérias de Importância na Patologia Humana.....	27
---	----

CAPÍTULO I - Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região.

Figura 1. A: Cursos de Boas Práticas de Manipulação (BPM); B: Cursos de atualização realizados pelos manipuladores de alimentos.....	41
---	----

Figura 2. A: Utilização de Manual de Boas Práticas e POPs; B: Presença de RT ou consultor no estabelecimento.	41
---	----

Figura 3. A: Conhecimento sobre DTA; B: Conhecimento sobre sinais clínicos de intoxicação alimentar.....	42
---	----

Figura 4. A: Conhecimento sobre as formas de contaminação alimentar; B: Conhecimento sobre a contaminação cruzada	42
--	----

Figura 5. A: Conhecimento sobre crescimento microbiano; B: Conhecimento sobre produtos para higiene do setor de manipulação de alimento de origem animal.....	43
--	----

CAPÍTULO II – Avaliação microbiológica dos tecidos têxteis (pano de prato) utilizados nos açougues de Londrina e Região.

Figura 1. A: Tubos de coletas contendo caldo BHI; B- Pano de prato durante coleta da amostra microbiológica. Imagens: arquivo pessoal.....	53
---	----

Figura 2. A: Placas contendo ágar MacConkey, demonstrando presença da fermentação de lactose. Imagens: arquivo pessoal	56
---	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - Avaliação microbiológica dos tecidos têxteis (pano de prato) utilizados nos açougues de Londrina e Região.

Tabela 1. Perfil de resistência microbiana das amostras coletadas dos panos de prato, e cultivadas em ágar MacConkey acrescidos de Ciprofloxacina e Cefotaxima nos açougues da cidade de Londrina e região, no período de agosto 2019 a março 2020 55

Tabela 2. Frequência e classificação dos agentes isolados nos panos de prato, por meio da técnica de identificação bioquímica, coletados em açougues da cidade de Londrina e região, no período de agosto 2019 a março 2020. 56

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
OBJETIVOS	14
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO E FABRICAÇÃO DE ALIMENTOS (BPMF)....	15
ENTEROBACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA ALIMENTAR	18
GÊNERO CITROBACTER	18
GÊNERO ENTEROBACTER.....	19
GÊNERO ESCHERICHIA.....	20
GÊNERO KLEBSIELLA	22
GÊNERO PROTEUS	22
GÊNERO SERRATIA.....	23
GÊNERO SHIGELLA.....	23
IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA.....	24
RESISTÊNCIA BACTERIANA	28
REFERÊNCIAS	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
CAPÍTULO I - NÍVEL DE CONHECIMENTO DOS MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL SOBRE SEGURANÇA ALIMENTAR: LONDRINA E REGIÃO	37
RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAL E MÉTODOS	40
RESULTADO E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	45
CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS TECIDOS TÊXTEIS (PANO DE PRATO) UTILIZADOS NOS AÇOUGUE DE LONDRINA E REGIÃO	48
RESUMO	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO.....	49
MATERIAL E MÉTODOS	52

RESULTADO E DISCUSSÃO	54
CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	58
CONCLUSÃO GERAL	61
ANEXOS	62
ANEXO A - TERMO DE LIBERAÇÃO DA PESQUISA	62
ANEXO B - INSTRUÇÃO PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS – REVISTA BRASILEIRA DE HIGIENE E SANIDADE ANIMAL	63
ANEXO C - CALDO CÉREBRO-CORAÇÃO-BOVINO (BHI – BROTH)	66
ANEXO D - ÁGAR MACCONKEY.....	67
ANEXO E - MEIO EPM-MILI.....	68
ANEXO F - ÁGAR CITRATO DE SIMMONS	69

INTRODUÇÃO

Todo alimento é responsável pelo bem estar, manutenção da vida e que seja de boa qualidade, o alimento considerado seguro, é aquele que não trás o desenvolvimento de enfermidades. As doenças de origem alimentar são descritas como uma das doenças de maior proporção no mundo contemporâneo, o que vem aumentando a preocupação da população com a qualidade alimentar. Isso ocorre, pois, nos dias de hoje o aumento na ingestão de alimentos fora de casa aumentou, sendo que o mercado deve conseguir equilibrar a produção de um alimento em maior escala, maior rapidez e em alta segurança, com as exigências de boas práticas industriais e governamentais, e o ganho próprio da empresa (EVANGELISTA-BARRETO, 2014; OLIVEIRA, 2011; SOLER et al., 2015).

O termo Segurança Alimentar ou “Food Safety” é descrito pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura a FAO – Este termo teve origem a partir da Segunda Guerra Mundial onde mais da metade de toda Europa sofria com falta de alimento e dificuldade na produção. O alimento deve ser garantido a toda a população de forma segura com garantia de qualidade, suficiente a todos e nutritiva, para que haja uma vida ativa e saudável. (DA SILVA, 2012; MARTINS et al., 2020).

Existem diversos fatores relacionados à ocorrência de doenças alimentares, dentre eles estão fatores como hábitos culturais, fatores demográficos da região, baixos incentivos governamentais com relação as boas práticas de fabricação, tendências globais do mercado, condições higiênico-sanitárias dos locais de comercialização, os mecanismos de virulência e adaptação do agente, transporte distribuição e armazenamento dos alimentos (MITTELSTAEDT e CARVALHO, 2006).

As doenças transmitidas por alimentos podem ser de origem física, química e biológica e através destas contaminações o homem pode adquirir uma doença transmitida por alimento, também conhecida como DTA's, pois quando presente microrganismos podem causar quadros severos devidos as suas toxinas ali presentes. Portanto, segurança alimentar se da a partir do controle da contaminação, é necessário o acompanhamento da qualidade dos alimentos e do setor em todos os passos até que este chegue à mesa do consumidor (COELHO, 2010; DA SILVA, 2012; RUBIN, 2012).

De acordo com o estudo realizado por Buzby (1996), no centro de controle de doenças Americana, as bactérias são responsáveis por 70% dos surtos e 95% dos casos de toxinfecção alimentar. As doenças transmitidas por alimentos podem causar diversas alterações metabólicas e sinais clínicos, como: diarreias, vômitos, dores de cabeça, febre, desconforto abdominal e dependendo do quadro infeccioso os sinais clínicos variam e podem se agravar como meningite, doenças em fígado, rim, entre outros (DA SILVA, 2012; MARTINS et al., 2020).

Ainda hoje no Brasil, não existe limite técnico disposto para contagem de microrganismos nos alimentos (mesófilos e coliformes). Os dados utilizados como base são internacionais. Entretanto, a mensuração é importante, pois mesmo que o alimento esteja em condições sensoriais adequadas, um número alto de contaminação indica que este alimento não está em condições para consumo. A utilização desta mensuração existe devido à legislação em vigor e ao crescimento exponencial que o setor alimentar apresenta anualmente. Este controle existe para que se possa garantir adequada saúde ao consumidor e trabalhador, higiene pessoal, ambiental e dos utensílios utilizados no ambiente de trabalho (ANDRADE et al., 2003; EVANGELISTA-BARRETO, 2014).

As bactérias possuem capacidade em se aderir a superfície de contato de equipamentos e utensílios e formar camadas de biofilme, quando isto ocorre, tornam mais difíceis a sua retirada e comprometer a higiene desses materiais, facilitando sua transmissão em todas as fases do processamento do alimento (PINHEIRO, 2010).

Portanto, para a identificação do nível de higienização dentro dos setores de alimentação e dos próprios manipuladores, diversos estudos classificaram os como: aeróbios mesófilos e principalmente as bactérias da família Enterobacteriaceae e a espécie *Escherichia coli* que quando presentes são fortes indicadores de contaminação fecal e denominados microrganismos indicadores (SOLER, 2015).

Dois tipos de pesquisas devem ser incentivados: a mudança dos materiais aplicados em utensílios de manipulação de alimentos e o desenvolvimento de novos produtos e protocolos de higienização dessas superfícies (AGUIAR et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2007).

Os materiais utilizados na rotina de manipulação, que entram em contato direto com alimento, devem ser confeccionados em materiais não passíveis de transmissão de doenças, substâncias tóxicas, que contenham odor, sabor e sejam resistentes, não permitam formação de fissuras e não se degradem com facilidade. Além destes, todo material utilizado para secagem de mãos e utensílios deve ser constituído de material não reciclado e descartável (RDC 216 de 15/09/2004).

Portanto é possível observar os riscos ao utilizar tecidos têxteis (pano de prato) no setor de manipulação de forma incorreta, como qualquer outro utensílio em que seu material permita absorção de líquidos e outros componentes, servindo desta forma também como meio de crescimento microbiano (AGUIAR et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2007; PINHEIRO et al., 2010; MARTINS, 2020).

OBJETIVOS

Buscar e identificar através da pesquisa o nível de conhecimento dos trabalhadores envolvidos na manipulação de produtos de origem animal da cidade de Londrina – PR e região, com relação às boas práticas de manipulação e segurança alimentar.

Averiguar a necessidade de melhorias no ensino e consultoria sob Boas Práticas de Manipulação e Fabricação nos setores alimentares na cidade de Londrina e região – PR.

Identificar a presença de enterobactérias indicadoras de contaminação e deficiência na higienização pessoal de açougues da cidade de Londrina e região – PR.

Pesquisar a presença e sensibilidade bacteriana da *Escherichia coli* nos tecidos têxteis (pano de prato) dos açougues da cidade de Londrina e região – PR.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO E FABRICAÇÃO DE ALIMENTOS (BPMF)

No Brasil, um alimento seguro foi descrito por Marmentini (2010) de acordo com a legislação Lei nº 11.346, 15 de setembro de 2006, que criou o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional (SISAN). Ele relata que a segurança alimentar e nutricional são direito de todos, possuindo acesso regular e permanente a alimentos de boa qualidade, em quantidade suficiente e sem comprometer qualquer acesso a outra necessidade essencial. O autor ainda enfatiza que é necessário ter como base, práticas alimentares que promovam saúde e respeitem a diversidade cultural, e que seja sustentável economicamente, socialmente e culturalmente.

Dentro dos setores de manipulação e alimentação, devem ser seguidas as orientações e normativas dispostas pelos órgãos de vigilância sanitária responsáveis no país e estados, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), também o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e os órgãos de vigilância sanitária em âmbito estadual e municipal (SILVA JR., 1995; CESAR DE OLIVEIRA, 2011; PIONEIRO et. al., 2010).

A instituição do Manual de Boas Práticas de Manipulação e Fabricação ocorreu pela primeira vez no Brasil, em 1993, através da Portaria nº 1428/93, no Ministério da Saúde, a partir da Resolução nº 58, atendendo as exigências internacionais do MERCOSUL. Posteriormente em 1998, as Portarias nº CVS-23 foi revogada para a Portaria nº CVS-8/96 e apresentou critérios e protocolos para a implementação do Manual de Boas Práticas de Fabricação, que foi reeditado no ano seguinte, devido a Portaria nº CVS-6/99 (CESAR DE OLIVEIRA, 2011).

As Boas Práticas de Manipulação e Fabricação foram descritas em um manual de orientações sobre as necessidades higiênico sanitárias para controlar a contaminação alimentar e contaminação cruzada entre os alimentos e o manipulador, além de ser a base legislativa para que os órgãos responsáveis pelo setor alimentar realizem suas fiscalizações (CESAR DE OLIVEIRA, 2011; SILVA JÚNIOR, 1995).

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002, que dispõe da importância da fiscalização do estabelecimento em geral e da implementação dos Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), descreve-se todas as atividades de limpeza e de estrutura física do estabelecimento, além da necessidade contínua da fiscalização interna e por Médico Veterinário responsável na vigilância sanitária do município. No artigo 3, parágrafo 1, estabelece-se que todos os estabelecimentos produtores e industrializadores de alimentos de origem animal devem seguir de imediato as exigências discriminadas na lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação. Esta lista descreve desde higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios, controle da potabilidade da água, higiene e saúde dos manipuladores, manejo dos resíduos, manutenção preventiva e calibração de equipamentos, controle integrado de vetores e pragas urbanas, seleção das matérias-primas, ingredientes, embalagens e programa de recolhimento de alimentos.

Em 2004 foi instituído o manual técnico descrito pela RDC nº 216 de 2004, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que estabelece todos os padrões de higiene sanitária referentes aos setores de produção alimentar, contemplando os mesmos tópicos descritos nos POPs pela RDC nº 275 de 2002, este descreve sobre as instalações, maquinários, moveis e utensílios, devem ser todos mantidos em condições adequadas de higiene. As operações realizadas devem ser feitas por funcionários capacitados de forma comprovada e com frequência que garanta condições de higiene e diminua ao mínimo possível os riscos de contaminação ao alimento (CESAR DE OLIVEIRA, 2011).

Descreve também que, todas as estruturas como janelas e portas, devem ser ajustadas ao batente e as portas dos setores de manipulação devem possuir fechamento automático. Outras aberturas e janelas devem possuir telas milimétricas para que impeça a entrada de vetores e pragas urbanas. Estas telas devem ser de fácil higienização e removíveis. Além destes o manual descreve sobre instruções adequadas de higienização dos setores, controle de vetores e pragas, higienização dos manipuladores, entre outros tópicos (RDC 216 de 15/09/2004).

Além da Portaria RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004, a Portaria 368, de 04 de setembro de 1997 pelo Ministério de Agricultura Pecuária e do Abastecimento, descreve sobre os equipamentos e utensílios que entram em contato direto com alimento, devendo ser confeccionados em materiais que não transmitam substâncias tóxicas, odores e sabores, sejam resistentes, não se degradem ou sofram corrosão devido às diversas operações de

limpeza e desinfecção. O uso de madeira ou outros materiais que permitam a absorção não devem ser utilizados, e as superfícies do setor devem ser todas lisas e livres de frestas e rugosidades. Além destes, a higiene de mãos e secagem devem ser realizadas por material de papel descartável e não recicláveis, os lavatórios exclusivos e de fácil acesso nos locais de manipulação de alimentos, em número suficiente para carga de manipuladores, com sabonetes de características neutras, sem cheiro, cor e aromas. Além disso, é necessário o papel toalha com acionamento sem contato manual para evitar contaminação posterior (PINHEIRO et al., 2010).

Já no município de Londrina – PR, a Lei Municipal nº 6.793/96, dispõe sobre a obrigatoriedade dos manipuladores precisarem receber em curso de Boas Práticas de Manipulação, orientação da forma correta de higienização das mãos e secagem. Todo estabelecimento deve possuir uma pessoa treinada para exigir de cada setor e supervisionar a higiene do estabelecimento e dos setores de manipulação, que estejam conscientes dos riscos e seus prejuízos à saúde.

Em São Paulo, a descrição sobre o uso dos tecidos têxteis (pano de prato) e higiene de mãos, com base nas normativas dispostas pelo ANVISA e MAPA, a Portaria do Centro de Vigilância Sanitária CVS 5 de 09 de abril de 2013 e Portaria nº 2619 de novembro de 2011, dispõe sobre proibição de lavagem dos tecidos têxteis (pano de prato) na área onde ocorre manipulação de alimentos e a utilização do uso de tecidos têxteis (pano de prato) não descartáveis para limpeza dos utensílios e materiais da área de manipulação de alimentos. Também descrevem a importância da higienização das mãos posterior a manipulação de objetos não referentes à área de manipulação, o uso de banheiros e materiais de limpeza. Também orienta sobre a proibição no estado do uso de tecidos têxteis (pano de prato) não descartáveis em procedimentos de higiene e secagem de utensílios e, além destes, os tecidos têxteis usados não devem acarretar risco de contaminação cruzada no setor.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) descreve a importância que os utensílios utilizados nos setores como: tábuas de carne, serra fita, caixas plásticas, talheres, tecidos têxteis (pano de prato), entre outros, participam aproximadamente de 16% das contaminações relacionadas a doenças alimentares. Por outro lado, os manipuladores são responsáveis por 26% dos surtos de doenças bacterianas de origem alimentar, sendo as mãos um dos principais veículos de transmissão microbiológica. O não cumprimento das instruções básicas de higienização, possibilitam a contaminação de produtos alimentares,

utensílios ambientes físicos em geral (ANDRADE et al., 2003; SANTOS et al., 2011, MARTINS, 2020).

ENTEROBACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA ALIMENTAR

Este grupo de microrganismos é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, são Gram-negativos, possuem capacidade de fermentar a glicose, formando gás, quando incubados em temperaturas de 35-37 °C, por 48 horas (ROSA, 2015).

Os gêneros mais comuns pertencentes a este grupo e de importância na saúde pública são, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Salmonella*. Destes, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* podem ser encontrados nas fezes, também no solo e vegetação, possuem maior resistência no ambiente do que as bactérias *Shigella* e *Salmonella*, que também são de origem intestinal. *Escherichia coli* é exclusiva do trato gastro-intestinal, e é um importante indicador de contaminação fecal no alimento. Segundo a comissão internacional de especificação microbiológica para alimentos (ICMSF), os microrganismos indicadores são divididos entre, microrganismos que não oferecem risco a saúde: mesófilos, psicotróficos, termófilos e bolores e leveduras, e os que oferecem risco a saúde, como os coliformes totais, enterobactérias totais e em especial *Escherichia coli* (BERG, 2014).

A diferenciação das bactérias dentro da família Enterobacteriaceae, acontece principalmente devido a diferenciação das enzimas codificadas por genes cromossômicos. Desta forma, por meio de uma série de testes que avaliam as diversas características metabólicas dos microrganismos, é possível estabelecer o perfil bioquímico e identificar estas espécies (ROSA, 2015).

GÊNERO *CITROBACTER*

O gênero *Citrobacter* compreende mais de 11 espécies, entre elas as espécies *C. freudii*, *C. diversus* e *C. amalonaticus*. São encontradas nas fezes de humanos e animais e também no solo, água alimento e esgoto. São bacilos curtos, anaeróbios facultativos, fermentam glicose e produzem gás. As amostras de *C. freudii* produzem sulfeto de

hidrogênio (H₂S), é flagelado e por isso móveis. Ocorrem isolados e em pares. Este gênero bacteriano é frequentemente isolado em indivíduos doentes devido a sua ação oportunista e pode causar meningite neonatal, sendo causador de mastite em animais, e encontrado no solo, água, esgoto e alimentos (GERON, 2018).

Citrobacter freundii, que possui grande importância nos quadros de diarreia em humanos, apresenta as características no teste bioquímico, produção de gás através da fermentação de glicose, prova de indol pode ser positiva ou negativa, motilidade, citrato e H₂S positiva, lisina negativa, e hidrólise da uréia positiva ou negativa (GERON, 2018; KONEMAN, 2008).

GÊNERO *ENTEROBACTER*

O gênero *Enterobacter*, é constituinte da família Enterobacteriaceae. São cocobacilos Gram-negativos, são produtores de gás, possuem 14 espécies, os principais descritos são: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter hormaechei* (AZEVEDO et al., 2018; ROSA, 2015).

Estas bactérias são isoladas facilmente de amostras biológicas e no ambiente, sendo encontradas no solo, água, plantas e no trato gastro-intestinal de animais e do homem. As infecções mais comuns são as nosocomiais, sendo os pacientes mais susceptíveis os imunossuprimidos ou quando há o uso prévio de antimicrobianos, fatores de malignidade, úlceras no trato gástrico, doença hepática e acessos externos ao organismo, como queimaduras, acesso venoso e ventilação mecânica (AZEVEDO et al., 2018).

Segundo Rosa (2015), a escolha da terapia correta no tratamento de doenças causadas por estas bactérias, se mostra cada vez mais complicada, devido a sua resistência a alguns antimicrobianos e a formação de resistência durante o período de tratamento. Em algumas ocasiões, quando presentes em grande quantidade por indução ou seleção, podem hidrolisar as cefalosporinas de amplo espectro, penicilinas e monobactâmicos.

GÊNERO *ESCHERICHIA*

A família Enterobacteriaceae compreende a bactéria do gênero *Escherichia*, bactéria anaeróbica facultativa, Gram-negativa, de maior abundância na microbiota intestinal e se localiza principalmente na mucosa da região do cólon. É uma bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, e o gênero *Escherichia* compreende as espécies, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia blattae*, *Escherichia vulneris*, *Escherichia hermanii*. Esta bactéria é bastonete curto, Gram-negativo, não esporulado, mede de 1 a 6 μm , maioria é móvel e sua temperatura ótima de crescimento é de 37 °C (GARMENDIA et al., 2005).

Em crianças é uma bactéria que coloniza o intestino logo após as primeiras horas após o nascimento e sua relação com o homem funciona de forma saudável quando equilibrada, dificilmente causará doenças, exceto em imunossuprimidos ou quando houver quebra da barreira natural. É o principal agente etiológico de infecções entéricas causadas pela água e alimentos contaminados, sendo um grande indicador de contaminação de origem fecal. Dentre os alimentos que podem estar contaminados por *E. coli*, as carnes cruas e frangos são os alimentos comumente relacionados aos casos de contaminação por esta bactéria (HARRINGTON et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2010).

A patogenicidade de *Escherichia coli* se manifesta devido a uma complexidade de fatores de virulência e variações de seus sorotipos. Com o tempo desenvolveram capacidade altamente adaptativa e modificações que levaram ao desenvolvimento de doenças graves no ser humano. Elas podem causar tanto doenças gastrointestinais como doenças do trato urinário, septicemias e meningites (HARRINGTON et al., 2006).

Os fatores de virulências segundo Parussolo et al., (2019) estão relacionados a estruturas do corpo bacteriano, estes são os antígenos capsulares, flagelares e fimbriais, a formação de biofilme é outra forma importante de patogenicidade da *Escherichia coli*, sendo este fator importante não só para o tratamento desta doença, como para os setores de produção alimentar e higiene.

A distinção das cepas de *E. coli* é importante não só pela implicação epidemiológica, mas também pelas implicações clínicas, para prevenir e tratar as doenças diarreicogênicas. A identificação dos fatores de virulência é uma forma de especificar as diferentes formas deste agente, pois são exclusivos para cada patotipo (PARUSSOLO et al., 2019).

Estudos no mundo inteiro demonstraram sérias preocupações sobre os fatores de resistência bacteriana e os diversos fatores de virulência que a *Escherichia coli* apresentou de isolados de leite pasteurizado, produtos lácteos e outros tipos de alimentos (PARUSSOLO et al., 2019). Portanto, *Escherichia coli*, causadora de alterações gastrointestinais foi classificada como diarreicogênica (DEC) e posteriormente foram classificadas em grupos de acordo com seus mecanismos de ação e fatores de virulência produzidos. Estes fatores são adesinas, invasinas e toxinas que caracterizam diferentes manifestações clínicas, e por isso foram classificadas em *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) sendo os primeiros os principais patótipos pesquisados (MACEDO et al., 2020; SOUZA 2016).

E. coli enteropatogênica (EPEC), na década de 40 e 50 caracterizaram surtos de diarreia infantil e ainda hoje é de grande importância em situações de baixo nível econômico e de condições de baixa higiene, responsável por altas taxas de mortalidade em crianças, ela causa principalmente quadros de diarreia aquosa e desidratação, podendo se complicar e causar quadros de infecção no trato urinário e meningite (OCHOA e CONTRERAS, 2011; SOUZA 2016).

E. coli enterotoxigênica (ETEC) possui capacidade infecciosa em crianças e em bovinos e suínos, causando quadros de diarreia e hipotermia e sua forma de patogenicidade se dá pela aderência da mucosa sem causar invasão e pela produção de toxina que age diretamente nas células da mucosa (NAGY e FEKETE, 2005).

E. coli enteroinvasora (EIEC), causadora de lesões mais especificamente na região de intestino grosso, provocam diarreias profusas contendo muco e sangue e febre, sua patogenicidade não ocorre devido produção de toxinas, ela causa grande invasão e ulceração da mucosa intestinal (SCHUETZ, 2019).

E. coli enterohemorrágica (EHEC) ou também conhecida como produtora de toxina Shiga (STEC) acomete tanto seres humanos como animais, causando diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica, síndrome urêmica hemolítica e nos suínos, doença do edema. Sua patogenicidade ocorre devido as lesões de mucosa onde leva a sangramento e formação de edema devido a liberação desta potente citotoxina. É responsável pelo

desenvolvimento de colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica, podendo levar a falência renal e morte (MITTELSTAEDT e CARVALHO, 2016; SCHUETZ, 2019).

A visualização e identificação da *E. coli* nos testes bioquímicos apresentam: crescimento em ágar MacConkey, produção de gás, fermentação, motilidade, lisina e indol positivas, H₂S, citrato, urease negativas. *E. coli* (EIEC), é a única que apresenta motilidade negativa (PESSOA E SILVA 1972; KONEMAN, 2008).

GÊNERO *KLEBSIELLA*

Principal espécie que compõe este gênero é a *Klebsiella pneumoniae*, e como descrito por Townsend et al., (2020), trata-se de bastonete Gram-negativo, com melhor crescimento em situações aeróbicas, mesmo sendo anaeróbico facultativo, são imóveis. É encontrada em locais como, solo, água, plantas e esgoto. Em pessoas imunocomprometidas, pode causar infecções oculares, respiratórias, e doenças do trato reprodutivo. Em ágar MacConkey suas colônias são róseas, e de consistência mucoide.

O gênero *Klebsiella*, foi nomeado pela organização mundial da saúde, como uma das bactérias de importância crítica no combate a resistência microbiana, dentro de seus gêneros é encontrada diversas proteínas de alta capacidade a resistência microbiana. Por possuírem a capacidade de formar biofilme, a torna capaz de colonizar objetos e aparelhos de uso na medicina humana como cateter central, ventilador mecânico, sonda urinária e com isso causar graves quadros infecciosos no trato urinário, quadros de pneumonia e sepsis (TOWNSEND; MOAT e JAMESON, 2020).

GÊNERO *PROTEUS*

Segundo Zappa et al., (2017), este gênero inclui as espécies, *P. vulgaris*., *P. myxofaciens*, *P. mirabilis*. e *P. penneri*. São bastonetes curtos, móveis pela presença de flagelos, anaeróbios facultativos, estão presentes na microbiota fecal humana e animal, também pode ser encontrado no solo e água. *Proteus* como outras enterobactérias possuem enzimas de resistência a antibióticos beta-lactâmicos, cefalosporinas e penicilinas.

Causam doenças do trato urinário, como infecções, porém também são encontradas em outras partes infectadas do organismo. Comumente causam doenças em hospedeiros imunossuprimidos ou quando há alteração da microbiota natural. São muito importantes na

deterioração dos alimentos. Nos testes bioquímicos apresentam produção de H₂S, hidrolisam a uréia e descarboxilam lisina, entre as espécies há variação na resposta de indol e citrato (ZAPPA et al., 2017).

GÊNERO *SERRATIA*

Serratia, segundo Menezes et al., (2004) é uma bactéria de grande importância na saúde humana, faz parte da família Enterobacteriaceae, e suas principais espécies são *S. liquefaciens*, *S. odorífera* e *S. rubidaea*, *S. marcescens*. Possuem papel importante em quadros de infecção urinária e apresenta resistência a diversos antibióticos utilizados nos dias de hoje. É uma bactéria que acomete imunossuprimidos em situações hospitalares, onde pode levar a quadros como, pneumonia, bacteremia, endocardite entre outros.

Apresenta resistência a cefalotina e colistina, é considerada, portanto, uma bactéria emergente e de grande importância em doenças hospitalares graves, uma importante espécie é *S. marcescens*, sua caracterização nos testes bioquímicos são: Urease, H₂S e indol negativos, lisina e citrato positivos, produz pouco gás, e fermentação negativos (MENEZES et al., 2004).

GÊNERO *SHIGELLA*

O gênero *Shigella*, é um bacilo gram negativo, anaeróbio facultativo e imóvel, composto por quatro espécies, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae* e *Shigella flexneri*. Este gênero está relacionado a casos de diarreia e gastroenterites no mundo todo. Em países em desenvolvimento, onde o saneamento básico e falta de higiene são fatores importantes e junto com os patógenos *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*, são grandes causadores de diarreias transmitidas pelos alimentos. *Shigella flexneri* e *Shigella sonnei*, são as duas espécies de maior ocorrência no Brasil, e causa importante de mortalidade e morbidade (SERIBELLI, 2016).

O Ministério da Saúde descreve que é a quarta bactéria mais isolada de gastroenterites em regiões distintas do país. Em crianças acima de 2 anos há uma prevalência de 15-18% e 2% dos surtos decorrentes da transmissão através do alimento e água. É uma doença altamente infecciosa mesmo em concentrações baixas. Suas características bioquímicas são ausência produção de gás, não descarboxila a lisina, não

fermenta a lactose, e através dessas características se diferencia da *Escherichia coli*, pois as duas são muito próximas geneticamente (SERIBELLI, 2016). Sua interpretação nos testes bioquímicos é: bom crescimento em ágar Hektoen e ágar Salmonella Shigella (SS), não produzem gás, não fermentam lactose, prova de indol pode ser positiva ou negativa, motilidade, lisina, H₂S, citrato e urease negativos (PESSOA e SILVA 1972; KONEMAN 2008).

IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA

O diagnóstico de doenças bacterianas é realizado a partir de diversos procedimentos e o diagnóstico definitivo compõe o isolamento e posterior identificação do agente bacteriano a partir de materiais clínicos colhidos diretamente do sítio da lesão. Chamamos estes exames de exame bacteriológico ou cultura. É importante que o cuidado e o conhecimento na qualidade da colheita sejam orientados, pois a precisão e veracidade dos resultados dependem destes passos, seleção das amostras e local, colheita adequada e envio ao laboratório (PEREIRA e PETRECHEN, 2011).

A identificação e análise microbiológica são fundamentais para avaliar as condições higiênico sanitárias dos estabelecimentos e dos manipuladores. Além destes, permite a avaliação qualitativa e quantitativa destes microrganismos no ambiente, seguindo os padrões nacionais e internacionais de avaliação e contagem microbiológica. Ainda, a avaliação microbiológica permite a orientação aos estabelecimentos e identificação dos principais pontos críticos no momento da manipulação alimentar (CARO-HERNÁNDEZ E TOBAR, 2020).

Quando alguns microrganismos estão presentes, permite graduar os riscos a saúde do consumidor e se o alimento terá uma vida útil pretendida. Os métodos utilizados para sua identificação são variados, porém a escolha deve ser baseada conforme indicação e aprovação pelos órgãos reguladores. Portanto, as metodologias qualitativas avaliam desde características de cada colônia em placas de crescimento, sendo a seleção do material utilizado em placa um fator importante com base no agente que se está pesquisando. Os isolamentos de rotina de muitos patógenos envolvem a inoculação da amostra em placas contendo meio de cultura seletivos específicos e não seletivos, estes meios de cultura enriquecidos e utilizados na rotina não sofreram grandes alterações com o passar do tempo e os mais utilizados na rotina são: Ágar sangue, Ágar MacConkey, Ágar chocolate, Ágar

Hektoen, Caldo BHI (*Brain heart infusion*), Caldo Rapaport, entre outros (PEREIRA E PETRECHEN, 2011).

O ágar sangue é um ótimo meio para crescimento de diversos patógenos e o ágar nutriente é um meio básico usado para suprir as necessidades de diversas bactérias, mas não é ótimo meio para uso primário no crescimento de bactérias patogênicas. Além destes, existem diversos meios específicos para serem usados para microrganismos específicos (PEREIRA E PETRECHEN, 2011). Portanto, para o crescimento e identificação de várias e diferentes espécies bacterianas se utiliza meios não seletivos e para a identificação de bactérias patogênicas entéricas se utiliza meios seletivos como, o Ágar MacConkey, Ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD), Ágar Hektoen (HE) e Ágar verde brilhante. Todas as placas devem ser incubadas em estufa por 18 a 24 horas, a 37 °C (CAMPOS et al., 2009).

O ágar MacConkey muito utilizado na rotina contém cristais violeta e sais biliares, inibindo o crescimento de Gram-positivas, sendo grande facilitador do crescimento de *Salmonella*, *Shigella* e *Pseudomonas*, tanto como a maioria das demais enterobactérias (CAMPOS et al., 2009).

Os meios ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD) e Hektoen (HE) são apropriados para crescimento de *Shigella* e *Salmonella*, seus diferentes sais permitem identificação das colônias de formas específicas, por coloração é um exemplo. Já o meio ágar verde brilhante é muito utilizado para selecionar especificamente a *Salmonella*, pois inibe o crescimento das demais enterobactérias. Suas colônias quando presentes possuem coloração verde-amareladas (CAMPOS et al., 2009).

Após a realização das culturas e exame macroscópico da placa e suas características, as colônias isoladas podem ser submetidas aos testes presuntivos de identificação como, EPM, MILi e Citrato de Simmons. Outros testes também usados na rotina são Triple Sugar Iron(TSI) e Rugai (KONEMAN, 2008).

O meio MILi avalia as características de motilidade, produção de indol e descarboxilação da lisina, o meio EPM, avalia a produção de gás, produção de H₂S, Hidrólise da uréia e descarboxilação da fenilalanina. O teste Citrato de Simmons avalia se a bactéria é capaz de utilizar o citrato como única fonte de carbono, o resultado na cor verde indica teste negativo e cor púrpura, teste positivo. O teste TSI também observa produção de gás, H₂S e o teste de Rugai, que possui composição modificada, mas também avalia, indol, H₂S, lisina, motilidade, gás, uréase e outros (KONEMAN, 2008).

Cada bactéria possui suas características com relação as informações citadas, a sua interpretação segue como base a tabela citada por Pessoa e Silva (1972) e Koneman (2008) que referencia todo o processo do teste e seus resultados, conforme cada espécie bacteriana, principalmente dentro da família Enterobacteriaceae.

Características Bioquímicas de Enterobactérias de interesse na Patologia Humana

Respostas em 24 horas da incubação	Klebsiella			Enterobacter				Citrobacter				Shigella			Proteus			Providencia		salmonella		Edwardsiella tarda		Serratia				
	pneumoniae	oxytoca	ozaenae	rhinoscleromatis	cloacae	salicariae	aerogenes	gingivalis	agglomerans	freundii	diversus	ammoniae	dysenteriae	sonnei	flexneri	boydii	vulgaris	mirabilis	Morganella morganii	stuartii	refrigerans	Enteridis	typhi	cholerae-suis	liquifaciens	marcescens	rubra	
Lactose	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
H ₂ S	96	76	76	94	76	100	93	58	60	60	60	60	100	98	100	99	100	98	100	96	95	99	100	100	100	84	99	100
LTD	95	100	100	100	100	100	100	100	100	90	100	100	100	100	100	100	95	94	100	100	100	94	94	60	99	100	100	
	99	100	100	100	100	100	50	100	72	100	100	100	100	100	100	100	100	99	95	98	98	100	100	100	99	100	100	
Indol	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
96	100	100	100	100	100	84	99	100	81	90	100	100	56	100	50	71	98	98	99	99	100	99	100	100	99	98	98	
VM	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	89	89	98	100	97	78	98	64	56	99	100	99	99	100	100	100	93	99	97	100	93	100	100	100	64	82	69	
VP	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
100	94	100	100	100	100	97	100	100	59	100	100	100	100	100	100	100	100	84	100	100	100	100	100	100	50	99	92	
Citrato	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	97	97	68	100	99	100	93	97	67	90	99	95	100	100	100	100	89	59	100	93	96	89	100	100	94	98	88	
Uréia	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	95	95	85	100	75	100	95	100	72	70	86	70	100	100	100	100	95	88	98	d	99	100	100	100	96	60	96	
Malonato	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	93	93	96	50	81	84	75	100	62	79	100	100	100	100	100	100	100	98	95	100	99	100	100	100	99	98	86	
Lisina	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
83	97	97	52	100	100	100	98	64	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100	100	95	100	90	64	99	61	
Arginina	d	99	99	94	100	92	100	100	100	52	62	70	99	99	92	82	100	100	100	100	100	65	100	100	100	99	100	
Ornitina	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
65	100	100	96	100	94	97	96	100	100	78	100	100	100	99	100	98	100	99	97	100	100	97	100	100	99	100	100	
Adonitol	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
95	89	89	98	98	78	100	98	100	93	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	96	99	100	100	100	92	54	88	
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	99	99	100	100	99	100	100	100	98	100	99	99	56	94	63	94	100	100	100	96	100	99	100	89	97	100	100	
Inositol	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
99	97	97	59	90	87	72	97	100	86	97	100	97	100	100	100	100	100	100	100	97	93	62	100	100	64	77	65	
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
90	+	+	+	+	+	100	+	+	94	100	98	100	98	86	69	83	96	99	100	97	98	96	100	85	96	97	92	
Manitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100	99	100	99	93	98	100	100	100	87	99	100	100	100	100	100	100	
Sacarose	d	+	-	+	+	+	+	+	+	d	d	-	-	-	-	-	+	-	-	d	-	-	-	-	+	+	+	
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
80	99	99	78	98	90	100	98	100	76	98	98	98	71	99	71	58	100	100	100	97	100	94	100	85	97	99	92	
Xilose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
83	99	99	92	100	98	100	100	97	96	99	100	99	96	99	99	89	89	96	100	94	85	94	100	100	99	93	98	
Motilidade	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
62	100	100	100	100	92	94	92	97	89	96	91	90	100	100	100	100	95	95	88	86	94	94	100	97	93	96	88	

Figura 1: Características Bioquímicas de Enterobactérias de importância na Patologia Humana (Fonte: PESSOA E SILVA, 1972).

Já as técnicas quantitativas, podem ser realizadas através dos métodos de controle como contagem rápida, onde os resultados negativos prevalecem e os positivos precisam ser confirmados com os testes padrões e também contagem em placas por Número Mais Provável (NMP). Esta técnica é utilizada para contagem dos grupos bacterianos (mesófilas, psicotróficas, termófilas e bolores e leveduras), variando apenas o tipo de meio usado, temperatura e tempo de incubação. Após seu crescimento em placa, as colônias serão contadas no padrão, unidade formadora de colônia (UFC), contando colônia ou agrupamentos por mililitro ou gramas de amostra. Outros testes utilizados para contagem são: Simplate, Colisure, Plaqueamento em espiral e a Técnica do Numero Mais Provável (NMP), e desta forma, permitem não só a identificação do agente como a quantidade dele, indicando se os fatores como limpeza, controle de temperatura, desinfecção do local no processo de produção foram realizados de forma correta, além de indicar a provável condição do alimento e sua degradação (BERG, 2014).

RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência bacteriana nos dias de hoje, a nível global, é um dos maiores problemas de saúde pública e econômica. Seu significado esta relacionado as cepas de microrganismos que são capazes de se multiplicar na presença de concentrações medicamentosas em níveis terapêuticos alcançados no sangue ou tecidos (MOTA et al., 2005; WANNMACHER, 2004). A origem da resistência bacteriana pode ocorrer por diversos mecanismos, ocorrendo entre espécies da mesma população ou diferentes populações e também como da microbiota animal para humana e vice-versa. O principal mecanismo de resistência microbiana esta relacionada a mutação cromossômica e a transferência por contato entre uma bactéria resistente a uma sensível. Esta transferência é realizada através de elementos genéticos extracromossomais chamados de plasmídeos (MOTA et al., 2005; VASCONCELO et al., 2010).

A evolução do desenvolvimento dos antimicrobianos passou por diversas fases, mas seu marco seu deu nos anos 1928 a 1929, pelo pesquisador Alexandre Fleming com a descoberta da Penicilina e Penicilina G, desenvolvida a partir do descobrimento do fungo *Penicillium notatum* capaz de inibir ou matar bactérias (LOUREIRO et al., 2016).

A partir destas descobertas, seu uso foi realizado de modo geral e indiscriminado, tanto para situações infecciosas e também para dores e febre, o que propiciou ao passar do tempo o desenvolvimento de cepas resistentes a esta substância, e induzindo o desenvolvimento posterior de novos fármacos (LOUREIRO et al., 2016).

Um dos grandes problemas que foram se instalando ao passo em que os antibióticos foram sendo desenvolvidos, tantos naturais, sintéticos e semissintéticos, foi a instalação desta nova classe e o grande uso do comércio sobre estes, o crescimento da indústria farmacêutica junto com os indícios de melhora na saúde pública, requer anualmente grandes investimentos e o desenvolvimento de novas drogas de forma constante. Nos dias de hoje os antibióticos estão dentro da classe das medicações mais prescritas no mundo, mais de 50% do orçamento medicamentoso vai para desenvolvimento de antibióticos (REIS et al., 2013).

Dentro da medicina humana três fatores contribuem muito para este processo, diversas farmácias e drogarias no Brasil que ainda vendem produtos sem prescrição médica, prescrição errônea do uso de antibióticos com relação a dose, quantidade, tempo de tratamento, o descarte incorreto, associações medicamentosas, tratamento de doenças virais autolimitantes, e terceiro, a falta de programas educacionais que orientem quanto à racionalização dos antibióticos (LIMA, 2017; LOUREIRO et al., 2016).

Dentro da Medicina Veterinária, o mesmo também acontece com prescrições indiscriminadas, a venda de fármacos controlados ou não, sem exigência de receita (MANTILA e FRANCO, 2012). Como exemplo o uso dos promotores de crescimento na cadeia de produção avícola, a administração de certos antibióticos e quimioterápicos em sub-doses de forma contínua na ração, proporciona um maior aumento de conversão alimentar e peso destes animais. Porém este tratamento contínuo e em sub-doses, favorece o desenvolvimento de cepas resistentes em bactérias patogênicas, diminuindo assim a capacidade destas drogas posteriormente tratarem doenças no ser humano e animais, e estando presente, podem ser veiculados aos consumidores pela ingestão de produtos de origem animal e outros, dificultando o tratamento de doenças bacterianas e aumentando a resistência destes micro-organismos aos antibióticos existentes. Além disso, a presença de baixas doses de antibióticos não detectados em alimentos pode levar a sintomas como alergias e toxicidade (GASTALHO et al., 2014; MANTILA e FRANCO, 2012; MOTA et al., 2005).

Portanto, o uso de antimicrobianos em animais e no homem, é o que determina a formação de resistência na sua microbiota natural e patogênica. Apenas 50% dos antibióticos existentes, são utilizados para tratamento de doenças humanas, a outra metade é para o uso como promotores de crescimento em animais, profilaxia de doenças e extermínio de pragas na agricultura (GASTALHO et al., 2014).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência a antimicrobianos na saúde humana, deveria ser tratada há muito tempo como um problema de saúde pública, principalmente em âmbito hospitalar, onde as dosagens e o uso é em grande escala, sendo assim, o estudo e as ações devem ocorrer de forma global, para que todos alinhem o uso e o tratamento das doenças de forma precisa e que busque a racionalização dos antibióticos. Quando um organismo com características de resistência a antibióticos esta presente no organismo humano, através do consumo de alimento de origem animal, ao colonizar estes novos organismos, eles são capazes de transferir esta capacidade a microbiota ali presente, e a presença de bactérias antibiótico-resistentes em alimentos caracteriza a gravidade e o risco ao futuro da saúde humana (MOTA et al., 2005; KADOSAKI, SOUZA e BORGES, 2012).

Desta forma Gastalho et al., (2014), descreveram as formas de propagação de bactérias multirresistentes, como as que ocorrem nos ambientes hospitalares, nos produtos alimentares e nos animais da cadeia de produção. A resistência aos antibióticos é um problema emergente, principalmente com as bactérias da família Enterobacteriaceae, os microrganismos presentes dentro desta família possuem enzimas com capacidade e espectro grande de resistência aos B-lactâmicos, além de diversos outros mecanismos de resistência a outras classes de antibióticos. Desde 2000, é relatado a disseminação a nível hospitalar de enterobactérias capazes de hidrolisar carbapenemases e quase todas as cefalosporinas, em especial estão a *E. coli* e *Klebsiella* que apresentam essas características chamadas de ESBLs ou seja, B-lactamases de espectro estendido (GASTALHO et al., 2014).

Um importante estudo citado por Mota (2005), detectou a presença de resíduos de antibióticos nas carnes de frango e bovina, e verificaram que a penicilina não foi detectada em nenhuma das amostras de frango, a tetraciclina estava presente em 23%, a streptomycin, gentamicina e cloranfenicol estavam presentes em baixos níveis, porém em uma grande percentual das amostras, respectivamente 93%, 97%, 67% (MOTA et al. 2005).

REFERÊNCIAS

AGUIAR, C; et al. Implementação de boas práticas de manipulação em uma creche do município de São Paulo. **Cadernos**. Centro Universitário S. Camilo, São Paulo, v.12, n.1, p.47-57, jan./mar. 2006.

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciênc. agrotec.**, Lavras. V.27, n.3, p.590-596, maio/jun., 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542003000300014&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 15 Abril de 2020.

ANVISA. Anvisa esclarece. 2017. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p_p_id=baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_assuntoId=9&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_conteudoId=2716&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_view=detalhamentos. Acesso em: 11 maio 2020.

AZEVEDO, P. A. A. et al. Detection of virulence and β -lactamase encoding genes in *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae* clinical isolates from Brazil. **Braz. Journ. of Microb.** v. 49, p. 224-228. Nov. 2018.

BATTAGLINI, A. P. P.; FAGNANI, R.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Qualidade microbiológica do ambiente, alimentos e água, em restaurantes da Ilha do Mel/PR. **Ciênc. Agr.** Londrina, v.33, n.2, p.741-754, Abril 2012.

BERG, J.. **Microrganismos indicadores em alimentos de origem animal**. 2014. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal - Universidade Federal Rural do Semiárido. Mossoró, 2014. Disponível em: <http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/126/Resumo%20MO%20indicadores.%20eider,%20Hiagos,%20Thiago.pdf>. Acesso em: 10 de junho 2020.

BRASIL, 2002. Resolução. Agência Nacional de Vigilância Sanitária **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. 2002.

BRASIL. 2004. Resolução. Agência Nacional de Vigilância Sanitária **RDC nº 216, de 15 de Setembro de 2004**. Legislação de Boas Práticas para Serviço de Alimentação, 2004.

BRASIL. Lei n. 11. 11346, de 15 de setembro de 2006. Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional - SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, D.F, sec.1, p. 01, 15 set. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/ industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 172, 08 set. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. 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**, Brasília (DF), 2004 a.

BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção. **Poder Executivo**: seção 1, São Paulo, SP, n. 73, pág. 32,35 abr. 2013.

BRASIL. Secretaria Municipal da Saúde. **Portaria nº 2619, de 06 de dezembro de 2011**. Sobre a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de vigilância em saúde e visando à proteção da saúde da população e as peculiaridades locais. 2011.

BUZBY, J. C.; ROBERTS, T.; LIN, J. C. T.; MACDONALD, J. M. Bacterial foodborne disease: medical costs and productivity losses. [S.l.]: United States Department of Agriculture, 1996. (Agricultural Economic Report, 741).

CAMPOS, D. F.; DABUS, D. M. M.; LIMA, G. S.; TRENTIN, T. C.; LÉO, V. F. Diagnóstico laboratorial de doenças bacterianas. **Ver. Cient. eletr. de med. Vet.** Garça, São Paulo. n. 12, jan. 2009. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/xlqenYrc4RIJEQ9_2013-6-21-10-4455.pdf. Acesso em: 20 de ago. 2020.

CARO-HERNÁNDEZ, P. A; TOBAR, J. A. Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos. **Entramado**. v.16, n. 1, p. 240-249, jun. 2020. <https://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.6126>.

COELHO, A. Í. M. et al. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. **Ciênc. Saúd. Colet.** Rio de Janeiro , v. 15, supl. 1, p. 1597-1606, jun. 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232010000700071&lng=pt&nrm=iso. Acessos em: 26 abr. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232010000700071>.

DA SILVA, R. A. **Ciência do alimento: contaminação, manipulação e conservação dos alimentos**. 2012. 37f. Trabalho de Conclusão de curso(Especialização)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2012.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; MIRANDA, P. C.; BARBOSA, D. C.; SOUZA, R. E. B. de; SANTOS, M. S. Condições higiênicas sanitárias da carne de sol comercializada no município de Cruz das Almas, Bahia e detecção de cepas com resistência antimicrobiana. **Ciênc. Agr.**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1311-1322, maio/jun. 2014. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/viewFile/14389/14601>. Acesso em: 15 maio 2020.

GARMENDIA, J.; FRANKEL, G.; CREPIN, V. F. Enteropathogenic and Enterohemorrhagic Escherichia coli Infections: Translocation, Translocation, Translocation. **Infect. and Immun.**, London, v. 73, n. 5, p. 2573–2585, may 2005.

GASTALHO, S; SILVA, G.J; RAMOS, F. Uso de antibióticos em aquacultura e resistência bacteriana: Impacto em saúde pública. **Act. Farm. Portug.**, vol. 3, n. 1, 2014. Disponível em: <http://www.actafarmaceuticaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/40>. Acesso em: 01 de julho de 2020.

GERON, C. C. **Classificação dos graus de lesões de aerossaculite em perus associadas com enterobactérias**. 2018. (Dissertação) – Universidade Estadual de Londrina. 2018. Disponível em: <http://www.uel.br/pos/mestradoclinicaveterinarias/pages/arquivos/disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20CAROLINE%20CELLA%20GERON.pdf>. Acesso em: 10 março 2020.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative Escherichia coli infection. **FEMS**. Baltimore, v. 254, p. 12-18, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.04.009>

KADOSAKI, L. L.; DE SOUSA, S. F.; BORGES, J. C. M. Análise do uso e da resistência bacteriana aos antimicrobianos em nível hospitalar. **Rev. Bras. Farm.** N. 93, v.2, p.128-135, 2012.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico**. 6^a edição. São Paulo – SP, editora Guanabara Koogan, 2008, 1760p.

LONDRINA. **Lei nº 6793, de 02 de outubro de 1996**. Torna obrigatório o treinamento em higiene de alimentos para todos os trabalhadores que atuam em quaisquer fases da cadeia alimentar, desde a produção até o consumo. Londrina: Câmara Municipal, 1996. Disponível em: <https://leismunicipais.com.br/a/pr/l/londrina/lei-ordinaria/1996/680/6793/lei-ordinaria-n-6793-1996-torna-obrigatorio-o-treinamento-em-higiene-de-alimentos-para-todos-os-trabalhadores-que-atuam-em-quaisquer-fases-da-cadeia-alimentar-desde-a-producao-ate-o-consumo>. Acesso em: 07 ago. 2020.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Ver. Port. saú. Púb.** Lisboa.v.34, n.1, p.77–84. 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Giovanna/Desktop/artigos%20TCC/trab%2016%20%20resist%20atb.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2020.

MACEDO, K.H.; DA SILVA, C.R.; DAMBROZIO, A.M.L.; KLEIN, A.L.; DE OLIVEIRA, W.D.; SANCHES, M.S.; DA ROCHA, S.P.D.; OCAÑA, A.N.; PELAYO, J.S. Caracterização de *Escherichia coli* diarreiogênica isolada de água subterrânea para consumo humano em um assentamento rural. **Ciênc. Bio. Saúde**. Londrina, v. 41, n. 2, p. 263-272, jul-dez. 2020.

MANTILA; S. P. S.; FRANCO, R. M. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens patogênicas de *Escherichia coli* isoladas de carne bovina. **Colloq. Agr.**, v. 8, n.1, p. 10-17. Jan-Jun. 2012. DOI: 10.5747/ca.2012.v08.n1.a074.

MARMENTINI, R. P.; ALVARENGA, V. O.; RONQUI, L. Manual de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos. Universidade Federal de Rondônia – UNIR, 2010. Disponível em: <<http://www.facimed.edu.br/site/.../8770b901b3aff4febc857ec524d8cb40.p...>>. Acesso em: 08 abr. 2019.

MARTINS, G.C.G; BUCHINI, J.L.C; MARZOLA, I.P; AMORIM, A.R; GOBETTI, S.T.C; MARÇAL, W.S. Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região. **Rev. Bra. de Hig. e Sanid. Anim.** v.14, n. 2, p. 185 – 195, abr – jun, 2020.

MENEZES. E.A.; CEZAFAR, F.C.; ANDRADE, M.S.S.; ROCHA, M.V.A.P.; CUNHA, F.A. Frequência de *Serratia* sp em Infecções Urinárias de pacientes internados na Santa Casa de Misericórdia em Fortaleza. **Rev. da Soc. Bra. de Med. Trop.** Fortaleza, n.37, p.70-71, jan-fev, 2004.

MITTELSTAEDT, S.; CARVALHO, V. M. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7- revisão. **Rev. Inst. Cienc. Saúde**. v.24, n. 3, jul-set 2006.

MOTA, R. A.; SILVA, K. P. C. da; FREITAS, M. F. L. de; PORTO, Wagner José Nascimento; SILVA, Leonildo Bento Galiza da. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Braz J vet Res anim Sci**, São Paulo, v. 42, n. 6, p. 465-470, 2005.

NAGY, B.; FEKETE, P. Zs. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. **Intern. Journ. of microb.** v. 295, n. 6-7, p. 443-454, october 2005.

OCHOA, T. J.; CONRERAS, C. A. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) infection in children. **Curr Opin Infect Dis**. V. 24, n. 5, p. 478-483, october 2011.

OLIVEIRA, G. C. de; LIMA, W. C.; RAUECKER, U. N. **Contaminação microbiana de superfície de manipulação de alimentos em cozinhas de escolas estaduais do município de Trindade-GO**. 2011. Monografia (Trabalho de conclusão de curso) – Faculdade União de Goyazes. Trindade, 2011. Disponível em: <https://docplayer.com.br/749798-Contaminacao-microbiana-de-superficie-de-manipulacao-de-alimentos-em-cozinhas-de-escolasestaduais-do-municipio-de-trindade-go.html>. Acesso em: 01 de março 2020.

PARUSSOLO, L.; SFACIOTTE, R.A.P.; DALMINA, K. A.; MELO, F.D.; MACIEL DA COSTA, U.; FERRAZ, S.M. Detecção de genes de virulência e perfis de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de leite cru e queijo artesanal no Sul do Brasil. **Ciênc. Agr.**, Londrina, v. 40, n. 1, p. 163-178, jan-fev. 2019.

PEREIRA, R. E. P.; PETRECHEN, G. G. Principais métodos diagnósticos bacterianos – revisão de literatura. **Rev. Cient. Eletr. De Med. Vet.** Garça, São Paulo. n.16, janeiro 2011. ISSN: 1679-7353. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/u94lwYWgePGj05L_2013-6-26-1111-29.pdf. Acesso em: 21 de ago. 2020.

PESSOA, G.V.A.; SILVA, E.A.M. Meios de Rugai e lisinamotilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. **Rev. do Inst. Adolfo Lutz**, v. 32, n. 1, p. 97-100, 1972.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. Análise Microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Rev. Simb. Log.** São Carlos, v.3, n.5, p. 115-124, Dezembro 2010.

POERNER, N.; RODRIGUES, E.; PALHANO, A. L.; FIORENTINI, A. M. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. **Ver. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.68, n.3, 2009. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v68n3/v68n3a11.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2020.

REIS, H. P. L. C.; VIEIRA, J. B.; MAGALHÃES, D. P.; SARTORI, D. P.; FONSECA, D. B.; VIANA, J. M.; CUNHA, F. A. Avaliação da resistência microbiana em hospitais privados de Fortaleza – Ceará. **Rev. Bras. Farm.** V.94, n.1, p. 83-87, 2013. Disponível em: <file:///C:/Users/Giovanna/Desktop/artigos%20TCC/28%20resist%C3%Aancia%20microbiana.pdf>. Acesso em: 04/07/2020.

RUBIN, F. H.; CERBARO, K.; NAUMANN, V.; BRUNELLI, A. V.; COSER, J.. **Avaliação microbiológica das mãos, utensílios, e superfície dos manipuladores de alimentos em entidades do banco de alimentos de Cruz Alta.** 2012. Disponível em: <<https://home.unicruz.edu.br/seminario/downloads/anais/ccs/avaliacao%20microbiologica%20as%20maos,%20utensilios,%20e%20superficie%20dos%20manipuladores.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2019.

SANTOS, PMS; KOURI, S; MELLO, LAO. **Análise microbiológica pré e após treinamento de manipuladores de alimento de uma panificadora.** 2011. Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/0322_0844_01.pdf. Acesso em: 15 jun. 2019.

SCHUETZ, A. N. Emerging agents of gastroenteritis: *Aeromonas*, *Plesiomonas*, and the diarrheagenic pathotypes of *Escherichia coli*. **Semin. in diag. Path.** v. 36, n. 3, p. 187-192. May 2019.

SERIBELLI, A. A.. **Análise do potencial patogênico, diversidade genotípica e perfil de resistência de Shigella sonnei isoladas de 1983 a 2014 no Estado de São Paulo**. 2016. 40f. Dissertação(Mestrado). Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

SILVA Jr, E. A. **Manual de Controle Higiênico-sanitário em Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995.

SOLER, C.; MANES, J.; SAVINO, A.; SORIANO, J. M. Propuesta de valores de referencia ambientales microbiológicos en los servicios de restauración. **Nutr Hosp.** V. 311, N. 4, p. 795-1802. 2015.

SOUZA, Cintya de Oliveira et al. Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Rev Pan-Amaz Saude** [online]. vol.7, n.2, p.79-91. 2016. ISSN 2176-6215. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232016000200010>.

TEIXEIRA, P. et al. **Bacterial Adhesion to Food Contacting Surface** In: MÉNDEZ-VILAS, A (ed). Communicating Current Research and Education Topics and Trends in Applied Microbiology. Portugal. Formatex, 2007.

TOWNSEND, E. M.; MOAT, J.; JAMESON, E. CAUTI's next top model – Model dependent Klebsiella biofilm inhibition by bacteriophages and antimicrobials. **Biofilm**. v. 2, dec. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2020.100038>.

VASCONCELO; F.R; REBOUÇAS, R.H; EVANGELISTA-BARETO N.S; SOUSA, O.V; VIEIRA, R.H.S.F. perfil de resistência antimicrobiana de escherichia coli isoladas do açude santo anastácio, ceará, brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.3, p.405-410, jul./set., 2010. Disponível em: file:///C:/Users/Giovanna/Desktop/artigos%20TCC/30.pdf. Acesso em: 06 ago. 2020.

WANNMACHER, L. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida**. Brasília, v. 1. n.4. 2004.

ZAPPA, V. et al. Índice de resistência múltipla aos antimicrobianos, concentração inibitória mínima e ESBL fenotípica em linhagens de Proteus mirabilis e Proteus vulgaris isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Semina Ciênc. Agrar.** v. 38, n. 2. 2017.

RESULTADO E DISCUSSÃO

CAPÍTULO I

Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região

Level of knowledge of animal food handlers about food safety: Londrina and region

Giovanna Caroline Galo Martins¹, Jéssica Lucilene Cantarini Buchini¹, Isabela Pissinati Marzolla¹, Angélica Rodrigues de Amorim¹, Suelen Tulio Córdova Gobetti², Wilmar Sachetin Marçal²

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo identificar o grau de conhecimento dos manipuladores de alimentos de supermercados da região metropolitana de Londrina, com relação a legislação sanitária, e verificar as deficiências práticas na execução destas normativas. Participaram da pesquisa 50 (cinquenta) colaboradores que trabalham nestes estabelecimentos, manipulando diretamente os alimentos e subprodutos de origem animal. A pesquisa foi realizada por meio de questionário, e o método de amostragem foi não probabilístico. Avaliou-se o nível de conhecimento das boas práticas de manipulação e fabricação, segurança alimentar, contaminação microbiológica, contaminação cruzada e intoxicação alimentar. A maioria dos entrevistados não possuíam nenhum tipo de treinamento específico, e os que tinham demoravam mais de seis meses para fazer cursos de atualizações e/ou aperfeiçoamentos. De acordo com os resultados da pesquisa, foi possível concluir que existe uma deficiência dentro dos setores onde há profissionais que manipulam esses alimentos, principalmente sobre as boas práticas de manipulação. Contudo, concluiu-se que ainda é preciso implementar e elevar a fiscalização destes setores para melhorar a segurança e qualidade dos produtos de origem animal.

Palavras-chave: contaminação, educação, doenças, legislação, transmissão.

Abstract:

The present study aimed to identify the degree of knowledge of supermarket food handlers in the metropolitan region of Londrina, in relation to health legislation, and to verify the practical deficiencies in the implementation of these regulations. Fifty (50) employees who work in these establishments participated in the research, directly handling food and animal by-products. The survey was conducted through a questionnaire, and the sampling method was non-probabilistic. The level of knowledge of good handling and manufacturing practices, food safety, microbiological contamination, cross-contamination and food poisoning was evaluated. Most respondents did not have any specific training, and those who did took more than six months to take refresher and / or improvement courses. According to the results of the research, it was possible to conclude that there is a deficiency within the sectors where there are professionals who handle these foods, especially regarding good handling practices. However, it was concluded that it is still necessary to implement and increase the inspection of these sectors to improve the safety and quality of products of animal origin.

Keywords: contamination, education, diseases, legislation, transmission.

Introdução

O termo “Segurança Alimentar” pode ser empregado e demonstrado de diversas formas. Ele é alterado conforme cultura, mercado, país e economia local. Este conceito engloba três aspectos principais: quantidade, qualidade e regularidade no acesso ao alimento.

No Brasil, a preocupação com a segurança alimentar ocorre desde o período colonial, mas era principalmente com a quantidade e regularidade na produção dos alimentos (SILVA, 2015; SEGALL-CORRÊA e MARIN-LEON, 2009). Nos dias atuais outras preocupações surgiram, em especial a qualidade em que este alimento é produzido e distribuído, bem como as inúmeras maneiras de diminuir os riscos à saúde humana e animal (SILVA, 2015; SHEGALL-CORRÊA e MARIN-LEON, 2009). Por isso, a qualidade dos alimentos tem sido cada vez mais mencionada nos meios de produção alimentar (PEREIRA et al., 2019). Os alimentos podem ser veículos de transmissão de

diversas doenças que são importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Em muitos países tem emergido como um crescente problema econômico e de saúde pública. Dentre as doenças mais comuns estão aquelas causadas por bactérias, vírus, protozoários e fungos responsáveis pelas toxi-infecções, além dos agentes químicos e substâncias tóxicas de origem animal e vegetal (BATTAGLINI et al., 2012).

Dos microrganismos as bactérias assumem um considerável papel nos surtos causados por agentes presentes nos alimentos. De acordo com o *Center For Disease Control* nos *EUA* as bactérias são responsáveis por 70% dos surtos e 95% dos casos de toxi-infecção alimentar (ANDRADE et al., 2003; BATTAGLINI et al., 2012). Da mesma forma no estado do Paraná, os últimos dados encontrados são de 2000 e 2005, onde houve 2019 notificações de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), sendo registrados 8.663 doentes e 1.000 hospitalizações em decorrência das toxi-infecções alimentares e aproximadamente 1,8 milhões de pessoas morreram de doenças devido quadros de diarreias graves (BATTAGLINI et al., 2012).

Devido ao crescimento exponencial anual desse tipo de surto, e com o intuito de fazer o controle adequado dos alimentos para manter a qualidade e diminuir os riscos de contaminação microbiológica, e com isso preservar a saúde do consumidor e dos trabalhadores que manipulam os alimentos, é preciso atender a legislação vigente que regulamenta as atividades dessa área especialmente quanto ao controle das condições de higiene pessoal dos funcionários, do ambiente e dos utensílios (ANDRADE et al., 2003; DA SILVA, 2012; SILVA, 2015; PONATH et al., 2016).

Os utensílios utilizados nos setores de alimentação como: tábuas de carne, serra fita, caixas plásticas, talheres, pano de prato, entre outros, participam aproximadamente de 16% das contaminações relacionadas as doenças alimentares, enquanto que os manipuladores são responsáveis por 26% dos surtos de doenças bacterianas de origem alimentar, sendo as mãos um dos principais veículos de transmissão microbiológica. Isso acontece porque acabam violando as instruções básicas de higienização, possibilitando a contaminação de produtos alimentares, utensílios e do ambiente em geral (ANDRADE et al., 2003; SANTOS; KOURI; MELLO, 2011; SILVA, 2015).

Diante desse cenário, o presente trabalho teve como objetivo identificar o grau de conhecimento dos manipuladores de alimentos de supermercados com relação a legislação sanitária, e verificar as deficiências práticas na execução destas normativas, e com isso

despertar aos manipuladores e proprietários para as necessidades de aprendizado e adequação dos estabelecimentos participantes da pesquisa.

Materiais e métodos

A pesquisa é do tipo investigativa e foi realizada por meio de questionário com 10 (dez) perguntas que foram elaboradas a partir dos temas: boas práticas de manipulação, segurança alimentar, doenças transmitidas por alimentos, contaminação cruzada, presença da equipe responsável pelo controle interno destas medidas de higiene e boas práticas, como empresas de consultorias e veterinário responsável técnico. O método de amostragem utilizado foi o não-probabilístico. A pesquisa foi realizada na região metropolitana de Londrina, Cambé, Ibiporã e Sertãozinho.

Participaram da pesquisa 50 (cinquenta) manipuladores de supermercados que foram selecionados de forma aleatória, dos quais os funcionários que manipulam alimentos de origem animal voluntariamente responderam às perguntas. Nas entrevistas os participantes não conheciam as perguntas, razão pela qual as respostas ocorreram de modo imediato e de forma espontânea. Todavia, houve concordância prévia de todos em colaborar, com amplo entendimento de que o instrumento de questionário refletia caráter educativo e de melhor aprimoramento profissional.

A pesquisa compreendeu o período de 29 de agosto a 05 de setembro de 2019. Em todos os estabelecimentos amostrados realizou-se visitas e entrevistas de campo, para esclarecimento e colaboração, evitando-se que os futuros entrevistados pré-julgassem, de modo equivocado, aspecto fiscalizador. Essa não era a intenção e nos preâmbulos da pesquisa deixou-se tal informação de maneira estabelecida.

Resultados e Discussão

Os resultados originados pela presente pesquisa foram sistematizados, revisados e delineados de modo a demonstrar, através de figuras e percentuais o extrato adquirido após as visitas e levantamentos *in loco*.

Assim como verificado por Marins, Tancredi e Gemal (2014), para um controle de qualidade eficaz é necessário o cumprimento da legislação vigente e a prática delas pelos manipuladores de alimentos. De acordo com os resultados (Gráfico 1 A e B) verificou-se que a maioria dos manipuladores nunca tiveram acesso ao treinamento técnico em “Boas

Práticas de Manipulação (BPM)”, e ainda que demoram de seis meses a um ano, ou mais, para realizar atualizações.

Nos estabelecimentos da pesquisa, apenas 40,8% dos manipuladores de alimentos consultam os manuais de BPM e de Procedimentos Operacional Padrão (POP), e 24,5% nunca os utilizaram para consulta e modelo de procedimentos.

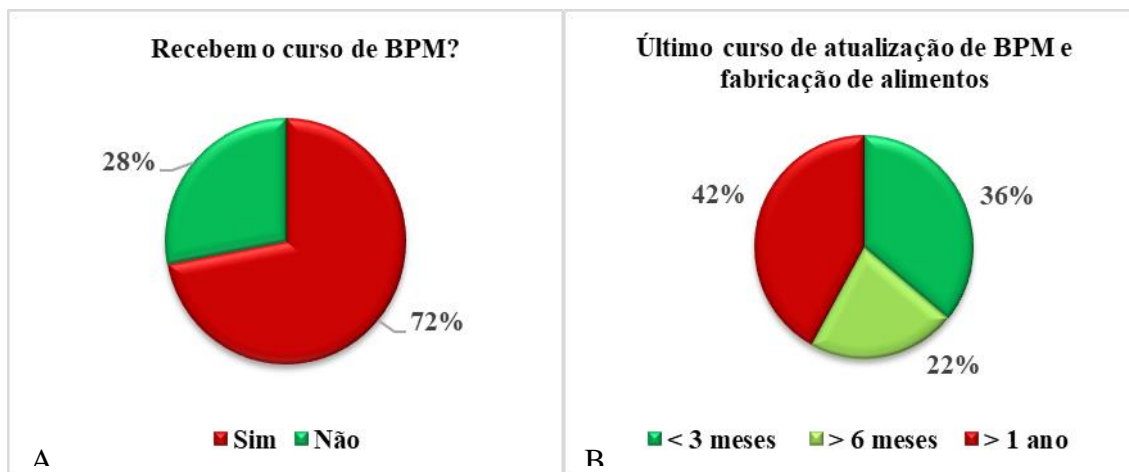


Gráfico 1 – A: Cursos de Boas práticas de Manipulação (BPM); B: Cursos de atualização realizados nos manipuladores de alimentos.

Acredita-se que a consulta aos manuais deveria ser considerada uma ferramenta de trabalho contínua, a fim de evitar a vulnerabilidade de execução de práticas erradas e consequentemente a contaminação dos alimentos (Gráfico 2 A). Outro ponto observado foi a ausência dos responsáveis técnicos nos supermercados de forma efetiva para fiscalização dos trabalhos executados, sendo que 72% dos entrevistados assumiram que os profissionais responsáveis pela fiscalização não permanecem nos estabelecimentos frequentemente (Gráfico 2 B).

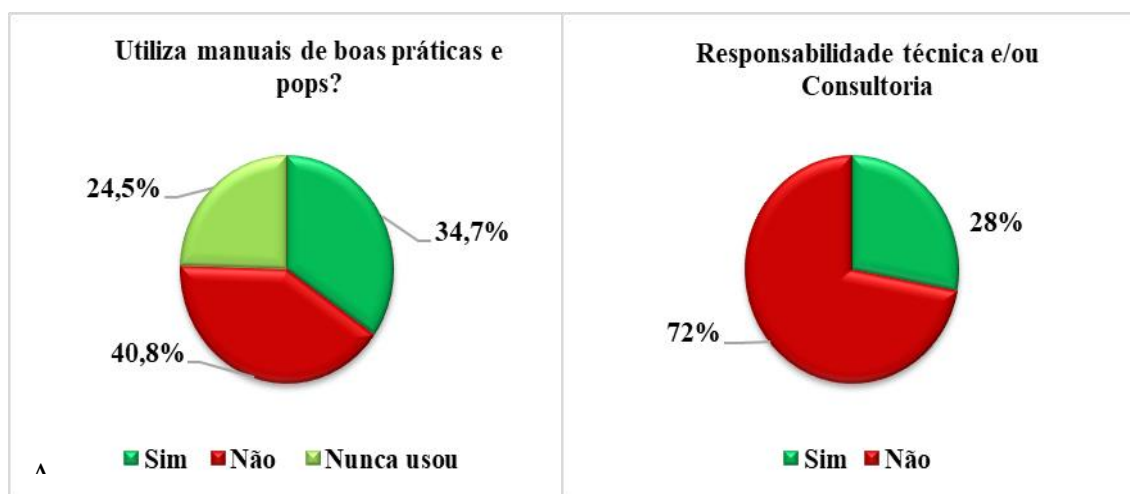


Gráfico 2 – A: Utilização de Manual de Boas Práticas e POPs; B: Presença de RT ou consultor no estabelecimento.

Os riscos de não serem realizados os cursos e atualizações, bem como a ausência dos responsáveis pela fiscalização dos funcionários manipuladores de alimentos, está principalmente no aumento da contaminação, por que os manipuladores ficam expostos às práticas incorretas desde manipulação dos alimentos à higiene pessoal e do ambiente, devido à falta de entendimento até mesmo de conceitos básicos como por exemplo o que é DTA, e as consequências do consumo de um alimento contaminado como a intoxicação alimentar, e os sinais clínicos envolvendo esta enfermidade (Gráfico 3 A e B).

Em relação ao nível de conhecimento sobre contaminação alimentar, foi constatado que 63% dos manipuladores acreditam que se trata de contaminação por microorganismos e substâncias tóxicas, e quando se perguntou sobre contaminação cruzada 56% disseram saber como controlar este tipo de contaminação (Gráfico 4 A e B).

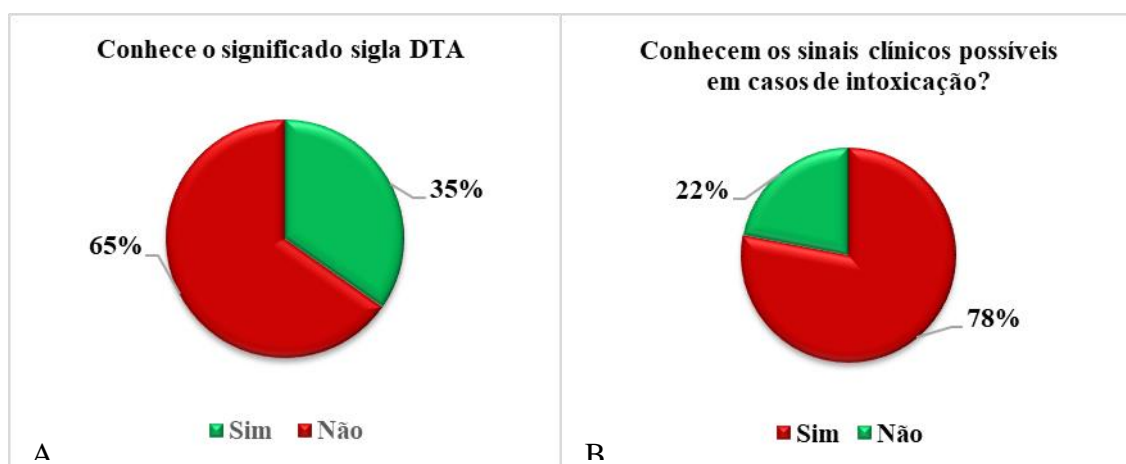


Gráfico 3 – A: Conhecimento sobre DTA; B: Conhecimento sobre sinais clínicos de intoxicação alimentar.

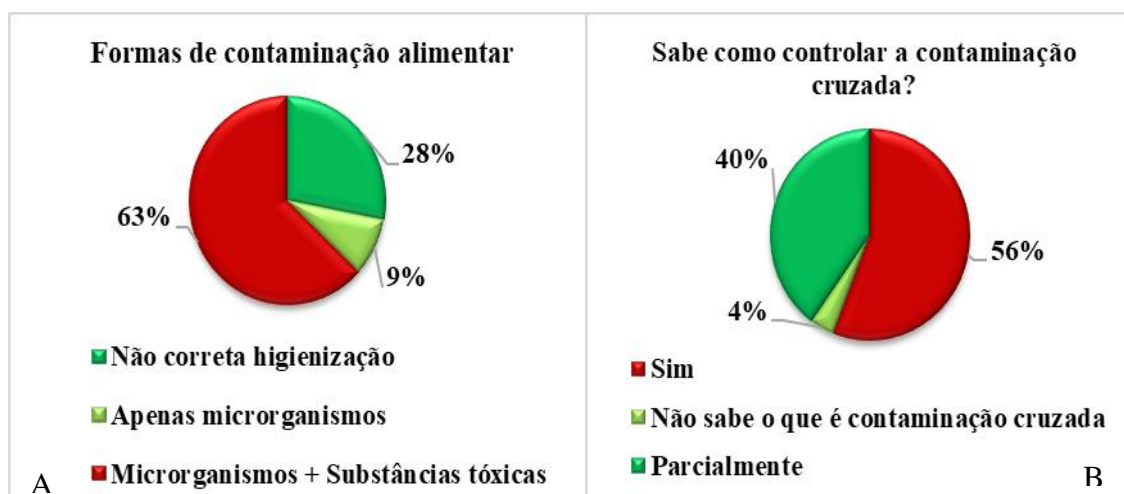


Gráfico 4 – A: Conhecimento sobre as formas de contaminação alimentar; B: Conhecimento sobre a contaminação cruzada.

Quando perguntou-se sobre as temperaturas de crescimento microbiano percebeu-se que há um amplo desconhecimento sobre desenvolvimento microbiológico, pois 88% dos funcionários disseram não saber a temperatura correta de armazenamento dos produtos afim de manter a qualidade dos alimentos (Gráfico 5 A).

Com isso, observa-se ainda mais a necessidade de implementar a obrigatoriedade da realização dos cursos e das atualizações de BPM nos supermercados pesquisados. Com relação a higienização do ambiente no setor de alimentação 86% dos manipuladores responderam que utilizam sabão neutro e álcool 70% (Gráfico 5 B).

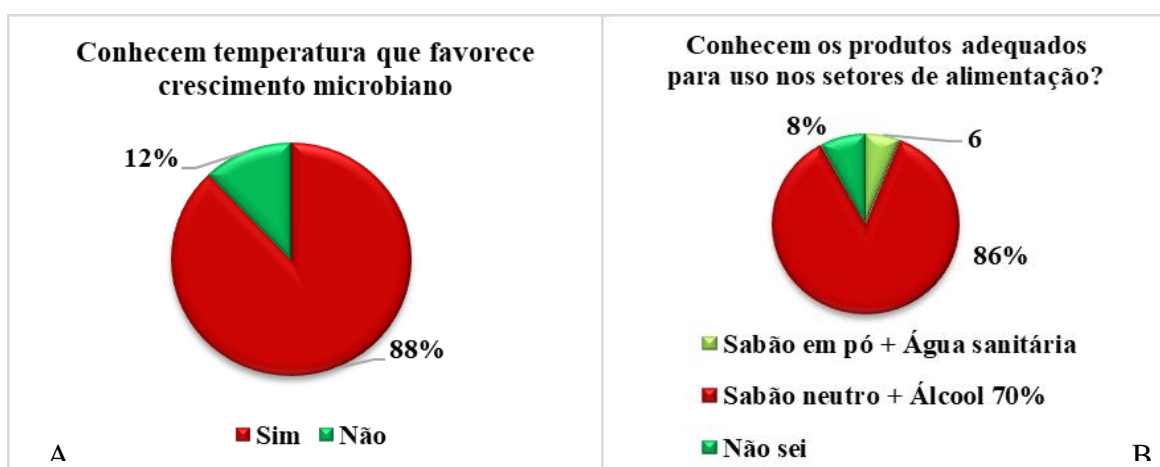


Gráfico 5 – A: Conhecimento sobre crescimento microbiano; B: Conhecimento sobre produtos para higiene do setor de manipulação de alimento de origem animal.

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa analisou-se que há uma ineficiência na execução das legislações vigentes: RDC nº 216 de 2004, Portaria nº 1428 de novembro de 1993, Lei nº 6.437, de agosto de 1977, e ainda o Decreto nº 77.052, de janeiro de 1976.

De acordo com essas legislações todo estabelecimento produtor de alimentos de origem animal, e principalmente os que realizem o processamento e industrialização do alimento, devem possuir consultoria técnica e responsável técnico, além de Manual de Boas Práticas e Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), descritivos de suas atividades internas de forma atualizada, e que responda as necessidades de cada estabelecimento. Estes manuais devem estar disponíveis para consulta, já que os manipuladores de alimentos são um dos principais transmissores de micro-organismos durante o processamento dos alimentos (POERNER et al., 2009; BATTAGLINI et al., 2012).

Também de acordo com a legislação brasileira, a atualização em boas práticas de manipulação deve ocorrer num período máximo de 6 meses. Com isso acredita-se que o

conhecimento dos manipuladores sobre os diversos pontos fundamentais para evitar a contaminação dos alimentos, é deficiente nestes supermercados, principalmente porque foi identificado pouco conhecimento sobre o desenvolvimento microbiológico, em especial as temperaturas corretas para armazenamento nos freezers, refrigeradores e descongelamento dos alimentos.

Os pontos de vulnerabilidade encontrados nestes supermercados acontecem porque os funcionários não fazem os cursos e as atualizações, e isso gera a modificação nos diversos comportamentos, tornando-os defasados dentro dos setores de alimentação, em especial quanto aos cuidados básicos de higiene pessoal e do ambiente. Os treinamentos regulares significam a aquisição de conhecimentos específicos sobre as áreas de processamento, microbiologia, controle de qualidade e de higienização industrial, mantendo desta forma a qualidade dos alimentos que chegam ao consumidor.

A atuação dos profissionais responsáveis pela fiscalização nas unidades que manipulam alimentos de origem animal, devem fundamentar regularmente os planos de monitoramento sobre as práticas de manipulação e armazenamento dos alimentos, para isso os testes de amostragem microbiológica tanto do ambiente, quanto dos utensílios e dos manipuladores são necessários (VALIETI et al., 2016), afim de melhorar a qualidade dos alimentos comercializados nestes estabelecimentos, uma vez que foi identificado essa ineficiência no dia-a-dia na maioria dos supermercados que participaram da pesquisa.

Embora as respostas dos manipuladores sobre os produtos de limpeza usados no setor de alimentação tenham sido na sua maioria assertiva, quanto ao tipo de produto correto para higiene do ambiente e utensílios, 14% dos manipuladores marcaram a resposta incorreta ou não sabiam responder. Esse dado nos mostra que é preciso repensar esse risco existente, pois ainda há uma deficiência no conhecimento quanto aos riscos do uso de produtos incorretos, e que eles podem inclusive serem causas de toxi-infecções químicas. E portanto, quando comparados as demais perguntas percebe-se que estes supermercados funcionam com diversos riscos operacionais, e que é preciso manter a disposição os manuais técnicos para que os funcionários os utilizem como uma ferramenta base do trabalho, além da orientação contínua dos profissionais responsáveis pela fiscalização dos alimentos e dos manipuladores.

Conclusões

Por fim, foi observado ser necessário implementar um adequado sistema de controle de qualidade através de cursos de atualizações de forma mais frequente, além do incentivo ao pessoal, até mesmo para a capacitação profissional. Foi possível concluir a partir dos resultados que, o conhecimento dos manipuladores sobre Segurança Alimentar é ainda insatisfatório. É necessário medidas que busquem melhorar a qualidade e segurança dos produtos de origem animal, a partir da qualificação dos manipuladores de alimentos de forma mais frequente e eficiente.

Referências

1. ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciênc. Agrotec** [Online], ISSN 1413-7054, Lavras - MG, v. 27, n.3, p.590-596, 2003.
Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542003000300014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 15 de Abril de 2020.
2. BATTAGLINI, A.P.P.; FAGNANI, R.; TAMANINI, R.; BELOTI, V.. Qualidade microbiológica do ambiente, alimentos e água, em restaurantes da Ilha do Mel/PR. **Ciências Agrárias**, Londrina - PR, v.33, n.2, p.741-754, 2012.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 77052, de 19 de janeiro de 1976. Dispõe sobre a fiscalização sanitária das condições de exercício de profissões e ocupações técnicas e auxiliares, relacionadas diretamente com a saúde. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 1976.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. ConGráfico as infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas e dá outras providências. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 1977.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1428, de 26 de novembro de 1993. Dispõe sobre a aprovação na forma dos textos anexos, o "Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos", as "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos" e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos". Determina que os estabelecimentos relacionados à área de alimentos adotem, sob responsabilidade técnica, as suas próprias Boas Práticas de Produção e/ou Prestação de Serviços, seus Programas de Qualidade, e atendam aos PIQ's para Produtos e Serviços na Área de Alimentos. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 1993.

6. BRASIL. Ministério da Saúde. 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**, Brasília (DF), 2004.
7. MARINS, B. R.; TANCREDI, R. C. O.; GEMAL, A. L. **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: EPSJV/FIOCRUZ, 2014, 288p. Disponível em: <http://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/seguranca_alimentar_vigilancia_0.pdf>. Acesso em 30 de abril de 2020.
8. PEREIRA, M.H.Q.; PEREIRA, M.L.A.S.; PANELLI-MARTINS, B. E.; SANTOS, S. M. C. Segurança Alimentar e Nutricional e fatores associados em municípios baianos de diferentes portes populacionais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, e019022, 19022, 12 jun. 2019. Disponível em: <<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8653447>>. Acesso em 15 janeiro de 2020. **Doi:** <https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8653447>.
9. POERNER, N.; RODRIGUES, E.; PALHANO, A.L.; FIORENTINI, A. M. Avaliação das condições higiênico-sanitárias em serviços de alimentação. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.68, n.3, p. 399 - 405, 2009.
10. PONATH, F.S.; VAIALTTI, T.B.; SOBRAL, F.O.S.; ROMÃO, N.F.; ALVES, G.M.C.; PASSONI, G. P. Avaliação da higienização das mãos de manipuladores de alimentos do Município de Ji-Paraná, Estado de Rondônia, Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**. Ananindeua, v. 7, n. 1, p. 63-69, 2016. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232016000100008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 27 de 2020. **Doi:** <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232016000100008>.
11. SANTOS, P.M.S.; KOURI, S; MELLO, L.A.O. **Análise microbiológica pré e após treinamento de manipuladores de alimento de uma panificadora**. In: XIINIC Encontro Latino Americano de Iniciação científica; XI EPG Encontro Latino Americano de Pós Graduação; V INIJr Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior, 2011, São José dos Campos – SP, Anais... José dos Campos: Univap – Urbanova, 2011, 4p.
12. SILVA, D. A. L. **Contaminação microbiológica em açougues e caracterização de *Listeria monocytogenes* quando a potencial patogênico, adesão e sensibilidade a sanitizantes**. 2015. 97p. Dissertação (Pós-Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.
13. DA SILVA, R. A. **Ciência do alimento: contaminação, manipulação e conservação dos alimentos**. 2012. 37p. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós Graduação em Ensino em Ciências) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira - PR, 2012.
14. SEGALL-CORREIA, A. M.; MARIN-LEON, L.. A segurança alimentar no Brasil: proposição e usos da escala brasileira de medida da insegurança alimentar (EBIA) de 2003 a 2009. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 16, n. 2, p. 1-19, 2009. Disponível em: <<https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8634782>>. Acesso em 20 de abril de 2020. **DOI:** <https://doi.org/10.20396/san.v16i2.8634782>.

15. VALIETI, M; HOPP, L. M.; GOMES, K. Q.; DE SÁ, M.A.R.; RAMOS, M. E. Avaliação do conhecimento em higiene de manipuladores de alimentos capacitados para Self Services de Uberlândia – MG. **Higiene Alimentar**, v.30, n. 252/253, p. 42-46, 2016. Disponível em: < [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/higiene-alimentar/30-\(2016\)-252-253/avaliacao-do-conhecimento-em-higiene-de-manipuladores-de-alimentos-cap/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/higiene-alimentar/30-(2016)-252-253/avaliacao-do-conhecimento-em-higiene-de-manipuladores-de-alimentos-cap/)>. Acesso em 29 de abril de 2020.

CAPÍTULO II

Avaliação microbiológica dos tecidos têxteis (pano de prato) utilizados nos açougues de londrina e região

Microbiological evaluation of textile fabrics (dishcloth) used in butchers in Londrina and region

Giovanna Caroline Galo Martins¹, Miriam Dibo², Isabella Pissinati Marzolla³, Gerson Nakazato³, Wilmar Sachetin Marçal³.

Resumo

Diversos casos de doenças transmitidas por alimentos são notificadas anualmente no estado do Paraná. Quase 100% dessas toxinfecções alimentares são causadas por bactérias. A conscientização dos manipuladores de alimentos sobre higiene pessoal, do ambiente e dos utensílios de trabalho, é imprescindível devido as diversas formas de riscos de contaminação dos alimentos que estão sendo manipulados. O objetivo deste trabalho foi investigar quais agentes microbiológicos estão presentes nos panos de prato, verificar a presença da *Escherichia coli*, e os potenciais riscos microbiológicos que manipuladores e consumidores podem estar expostos no dia-a-dia, e por fim demonstrar qual a responsabilidade dos manipuladores de alimentos na propagação destes agentes. Foram realizadas colheitas em seis açougues de Londrina e região. Essas colheitas foram efetuadas no período de setembro de 2019 a março de 2020, por meio da técnica de *swab test*, totalizando 11 amostras que foram posteriormente analisadas no laboratório de bacteriologia básica e aplicada, no centro de ciências biológicas da Universidade Estadual de Londrina. Os testes realizados foram: bioquímico para identificação das colônias e antibiograma apenas amostras positivas para *Escherichia coli*. Foram identificadas 27 colônias de enterobactérias, destas, três amostras de *Escherichia coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana e apresentaram sensibilidade intermediária a dois importantes antibióticos, cefotaxima e cefazolina. Além disso, o trabalho demonstrou a necessidade de maior enfoque e que sejam trabalhados de formas inovadoras os treinamentos com relação as Boas Práticas de Fabricação, tanto pela equipe técnica responsável, como pelos órgãos de fiscalização e vigilância sanitária.

Palavras-chave: consumidor, manipulação, resistência bacteriana, saúde.

Abstract

Several cases of foodborne diseases are reported annually in the state of Paraná. Almost 100% of these foodborne infections are caused by bacteria. The awareness of food handlers about personal hygiene, the environment and work, is essential due to the various forms of risk of contamination of the food being handled. The objective of this work was to investigate which microbiological agents are present in the dish towels, to verify the presence of *Escherichia coli*, and thus to identify the potential microbiological risks that manipulators and consumers may be exposed to on a daily basis, and finally demonstrated which the responsibility of food handlers in spreading these agents. Collections were carried out in 6 butchers in Londrina and region. These collections were carried out from September 2019 to March 2020, using the swab test technique, totaling 11 that were subsequently analyzed at the basic and applied bacteriology laboratory of the Biological Sciences Center of the State University of Londrina. The tests realized were: bacterial and biochemical sensitivity for identification of colonies, and antibiogram only for the positives results for *Escherichia coli*. 27 colonies from enterobacterias were identified, among these, 3 of *Escherichia coli* were subjected to the antimicrobial sensitivity test and intermediate sensitivity to two important antibiotics, cefotaxime and cefazolin, in addition to this the necessary work with a greater focus and that worked in innovative ways the training and information regarding Good Manufacturing Practices, both by the responsible technical team, as well as by the health inspection and surveillance bodies.

Keywords: consumer, manipulation, bacterial resistance, health.

Introdução

O termo “Segurança Alimentar” teve origem a partir da Segunda Guerra Mundial onde mais da metade de toda Europa sofria com a falta de alimento e com a dificuldade na produção desses alimentos (SILVA, 2012). No Brasil por sua vez, Marmentini, Alvarenga e Ronqui (2010) descreveram, com bastante propriedade, a legislação número 11.346 de 15 de setembro de 2006, que deu origem ao Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional –SISAN. O autores relataram que é direito de todos o acesso de forma contínua e regular aos alimentos de boa qualidade e em quantidade adequada, ainda mencionaram que esse direito não pode comprometer o acesso a outras necessidades básicas, devendo

acontecer de maneira sustentável com a sociedade, com a cultura, com o ambiente e a economia do país. De acordo com Silva (2012), o termo “Segurança Alimentar” deve ser utilizado nas seguintes condições: conforme descrito pela FAO – Food and Agriculture Organization da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, quando o alimento é fornecido a toda população de forma segura, nutritiva e em quantidade suficiente para todos de maneira que haja uma vida ativa e saudável, e, associada ao termo “Food Safety”, no qual o alimento é fornecido de forma segura e com garantia de qualidade.

A qualidade de um alimento está diretamente relacionada com o controle das contaminações físico - química e biológica. Quando qualquer uma destas contaminações, ou mais de um desses fatores estiverem presentes no alimento, pode culminar em uma DTA (Doença Transmitida por Alimento) para quem for consumir desses alimentos. A DTA engloba todas as toxinfecções causadas por microrganismos como bactérias, vírus, protozoários, fungos, agentes químicos, substâncias tóxicas de origem animal e vegetal que possam estar presentes e que são indesejadas. Em razão da complexidade dos fatores que afetam esta questão, é importante o acompanhamento da segurança alimentar em todos os processos do alimento, como a industrialização, processamento, transporte e até mesmo na fase final e chegada a mesa do consumidor. Desta forma, atendendo a legislação em vigor, e devido ao crescimento exponencial dos serviços de fornecimento de alimento, e da exigência do consumidor final, são necessários os cuidados através do ensino adequado de como se procede a higiene pessoal, do ambiente e dos utensílios, em especial para os manipuladores que participam de todos os processos de manipulação dos alimentares (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; SILVA, 2012).

De acordo com as orientação da portaria RDC 216 de 15 de setembro de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e da Portaria 368, de 04 de setembro de 1997 do Ministério de Agricultura e do Abastecimento, a secagem das mãos, depois de higienizadas, devem ser realizadas em material de papel descartável e não reciclável; o local de trabalho onde se manipula os alimentos deve possuir lavatórios exclusivos e de fácil acesso aos manipuladores, e ainda em número suficiente para a quantidade de manipuladores que ali trabalham. Além disso, os sabonetes disponíveis para a higienização devem conter características específicas, além de *dispenser* de papel toalha e com acionamento sem contato manual para evitar contaminação posterior.

Nos locais onde se manipulam alimentos são utilizados métodos para identificação do nível de contaminação, e esses testes servem de parâmetro pra verificar como está sendo executado o controle de qualidade dos alimentos. Um dos parâmetros que são avaliados é a quantidade de coliformes no ambiente e utensílios, pra verificar a contaminação de origem fecal. Os coliformes são bactérias da família Enterobacteriaceae, e dentre elas a bactéria do gênero *Escherichia coli* é a principal indicadora se há contaminação fecal, pois ela é exclusivamente de origem fecal (SCHUOFF et al., 2014; MACEDO et al., 2020). A *Escherichia coli* geralmente está associada as infecções intestinais em adultos e crianças, por isso são denominadas como *E.coli* diarreicogênica (ETEC). Mas também pode ser dividida em diferentes patótipos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga ou enterohemorrágica (STEC/EHEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC). Esses patótipos são muito importantes nos casos de infecções humanas porque podem causar desde problemas gastrointestinais, a quadros mais graves como colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (SHU) e de insuficiência renal aguda e crônica (SCHUOFF et al., 2014).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), os utensílios utilizados como tábuas de carne, serra fita, caixas plásticas, talheres, pano de prato, entre outros, participam aproximadamente de 16% das contaminações relacionadas as doenças transmitidas por alimentos, enquanto que os manipuladores são responsáveis por 26% dos surtos de doenças bacterianas de origem alimentar, sendo que as mãos são um dos principais veículos de transmissão microbiológica. Se os manipuladores de alimentos violarem as instruções básicas de higienização, o risco de contaminação dos alimentos, dos utensílios e ambiente de trabalho, pode aumentar consideravelmente (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; SANTOS et al., 2011). As bactérias tem capacidade de aderir as superfícies de contato dos equipamentos e utensílios, em especial aqueles que possuem características absorvíveis como tecidos, madeiras, ou que tenham fissuras e frestas. Estes materiais ou superfícies servem como meio e acúmulo de secreções, desta forma diferentes autores sugeriram a mudança dos materiais utilizados como utensílios de manipulação de alimentos, e ainda o desenvolvimento de novos produtos e protocolos de higienização dessas superfícies (AGUIAR et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2007; PINHEIRO; KOURI; MELLO, 2010).

De acordo com o Centro de Controle de Doenças Americana, dos Estados Unidos, as bactérias são responsáveis por 70% dos surtos e 95% dos casos de toxinfecção alimentar (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003). Baseado nesta informação e no fato de que as doenças transmitidas por alimentos podem causar diversas alterações metabólicas como diarreias, vômito, dores de cabeça, febre, desconforto abdominal e dependendo do quadro infeccioso, os sinais clínicos variam e podem-se agravar para meningite, alterações renal e hepática (PASSOS et al., 2008), não sobram dúvidas da grande importância que as bactérias possuem nos surtos de origem alimentar. Posto isto, e considerando as informações relatadas na literatura sobre contaminação do ambiente e utensílios com potencial risco de contaminação alimentar, este trabalho teve como objetivo investigar quais agentes microbiológicos estão presentes nos panos de prato de 6 açougues de Londrina e região, verificar a presença da *Escherichia coli*, e assim identificar os potenciais riscos microbiológicos que manipuladores e consumidores podem estar expostos no dia-a-dia, e por fim, demonstrar qual a responsabilidade dos manipuladores de alimentos na propagação destes agentes.

Materiais e Métodos

Esta pesquisa foi realizada com parceria entre a Universidade Estadual de Londrina (UEL), Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias e Laboratório de Bacteriologia básica e aplicada do Centro de Ciências Biológicas (CCB), e do Departamento de Vigilância Oficial do município de Londrina – PR. As colheitas deste trabalho foram realizadas em seis açougues localizados no município de Londrina, Cambé e Sertãozinho, sem aviso prévio, no período de setembro de 2019 a março de 2020. Os estabelecimentos foram incluídos nesse estudo considerando a concordância dos proprietários, assinatura de termo de liberação para colheita e fiscalização oficial da Vigilância Sanitária do município.

A colheita do material foi realizada por uma pessoa treinada e capacitada em boas práticas de manipulação e técnica para colheita do material nos seis estabelecimentos. Os estabelecimentos A, B e C foram classificados como grupo 1, e os estabelecimentos D, E e F foram classificados como grupo 2. Os açougues possuíam diferentes níveis estruturais e de boas práticas de manipulação, sendo o grupo 1 classificado como nível elevado e possuía veterinário responsável (RT) e o grupo 2 com características inferiores de estrutura e sem (RT). Em todas haviam a manipulação, fabricação e comercialização de produtos cárneos de diferentes espécies animais (aves, suínos e bovinos).

O material escolhido para colheita das amostras foi o pano de prato de tecido de algodão, por ser um item utilizado na higienização do ambiente, equipamentos e mãos dos manipuladores. Em cada estabelecimento um pano de prato foi escolhido de forma aleatória, cuja colheita superficial das amostras foi realizada por meio da técnica de esfregação de superfície com “Swab Test” (ABNT, 1998). A pessoa que realizou a colheita fez o uso obrigatório de EPI's, a fim de evitar a contaminação do material colhido. Todos os swabs para colheita foram umedecidos em solução diluente BHI - infusão Cérebro coração (Difco®,USA) antes de iniciar o procedimento (Figura 1A).

Em cada pano de prato foi delimitado a metragem de 62,5 cm³, respectiva às distâncias entre os dedos polegar e indicador sempre na região central do pano (Figura 1B). Em seguida eram realizadas fricções no pano de prato com uma pressão constante. O swab era posicionado em uma angulação de 30 graus e realizando giro completo de 180 graus, com movimentos da esquerda para a direita, e em seguida da direita para a esquerda, e assim consecutivamente, totalizando quatro movimentos contínuos. Por fim, os swabs eram conservados em tubos com caldo BHI de 5ml cada, armazenados em caixa de isopor simples em temperatura ambiente, e imediatamente transportados ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia do CCB/UEL, e acondicionados em estufa bacteriológica a 37°C por 18 a 24 horas.

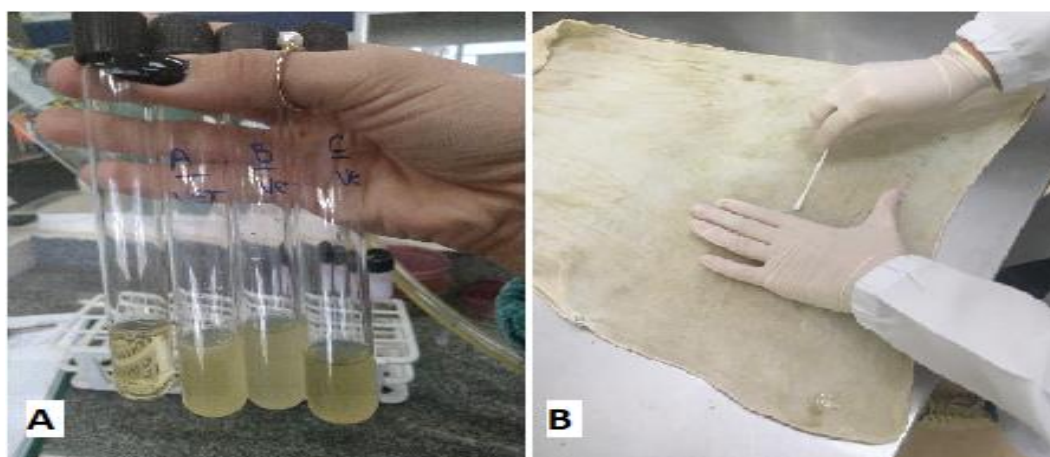


Figura 1: A – Tubos de coletas contendo caldo BHI; B- Pano de prato durante coleta da amostra microbiológica. Imagens: arquivo pessoal.

No laboratório de bacteriologia, os swabs foram removidos dos tubos contendo caldo BHI e semeados em placas contendo ágar MacConkey (Neogen®) e ágar MacConkey acrescido dos antibióticos Ciprofloxacina e Cefotaxima, para crescimento

bacteriano e possível seleção de bactérias resistentes e em Ágar Sabouraud (Difco®, USA) para identificar crescimento fúngico. Para seleção específica de enterobactérias como *Salmonella* e *Shigella*, foi necessário a realização do teste de imersão em caldo Rappaport-Vassiliadis (Difco®, USA). Os resultados positivos para enterobactérias que apresentaram turbidez do caldo Rappaport-Vassiliadis, foram semeados posteriormente em ágar verde brilhante e Desoxicolato-lisina-xilose (Kasvi®). Estes testes foram feitos para a seleção e isolamento de enterobactérias gram-negativas em especial a *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. Todas as amostras analisadas precisaram ser submetidas a incubação em estufa bacteriológica, em 37°C por 18 a 24 horas.

Após as colônias bacterianas serem isoladas, as amostras foram submetidas à identificação bioquímica para classificação de gram-negativas, dentro da família Enterobacteriaceae de acordo com a metodologia de identificação descrita por Koneman (2008). Foram utilizados os meios EPM que avalia a fermentação de glicose, produção de gás, produção de H₂S, hidrólise da uréia e desaminação da fenilalanina, MILi que testa motilidade, descarboxilação da lisina e produção de indol e o teste Citrato de Simmons que avalia a utilização do citrato como única fonte de carbono. Posteriormente foram incubados a 37°C por 24 horas. As amostras positivas para *Escherichia coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade bacteriana por meio do antibiograma de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018), pelo método de disco difusão em ágar. Foram testados os seguintes antimicrobianos (Laborclin® - BR): tetraciclina (30µg), ciprofloxacina(5µg), cefotaxima (30), gentamicina (10µg), cloranfenicol (30µg), enrofloxacin(05 µg), azetronam(30 µg), cefazolina (30µg), cefalexina(30 µg), imipenem(10 µg), ceftazidima(30µg), cefepime(30µg) e sulfazotrim (25 µg).

Resultados e Discussão

As 11 amostras colhidas inicialmente apresentaram crescimento nos meios de cultura Ágar Macconkey e Ágar Sabouraud, onde apresentaram ótimo crescimento microbiano e fúngico. Foram isoladas 69 colônias bacterianas, todas as amostras bacterianas foram também submetidas ao crescimento em ágar MacConkey adicionado os antibióticos Ciprofloxacina e Cefotaxima para seleção de possíveis colônias resistentes aos antibióticos. De acordo com a Tabela 1, é possível observar que 91% das amostras A1,

A2, B1, B2, C1, C2, D1, D2 e E1, apresentaram crescimento positivo em meio de cultura acrescido com cefotaxima, que segundo Carmine et al. (1983) & Todd e Brogden (1990), é o primeiro antibiótico da família das cefalosporinas de terceira geração, de ampla ação principalmente sobre gram-negativas e utilizados no tratamento de doenças causadas por enterobactérias multirresistentes. Em 55% das amostras A2, B2, C2, D1, E1 e E2 houve crescimento em meio de cultura com ciprofloxacina, um antibiótico de amplo espectro da família das quinolonas, de eficácia contra quase todas gram-negativas (CAZEDEY, 2009).

Tabela 1 - Perfil de resistência microbiana das amostras coletadas dos panos de prato, e cultivadas em ágar MacConkey acrescidos de Ciprofloxacina e Cefotaxima nos açougues da cidade de Londrina e região, no período de agosto 2019 a março 2020.

ATB	A1	A2	B1	B2	C1	C2
CIP	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
CTX	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
CALDO RAPAPPORT	Turvo	Turvo	Turvo	Turvo	Normal	Normal

ATB	D1	D2	E1	E2	F1	F2
CIP	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	X
CTX	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	X
CALDO RAPAPPORT	Turvo	Turvo	Turvo	Turvo	Normal	X

Microrganismos em superfícies, como citado por Battaglini (2012), além de causarem deterioração do alimento, são responsáveis por diversas causas de toxinfecções, quando há a presença das bactérias indicadoras de contaminação fecal, estas principalmente *Escherichia coli* e *Salmonella* são indicativos de grande deficiência nos procedimentos de higienização do setor. Os resultados positivos para turbidez do caldo Rapapport nas amostras A1, A2, B1, D1, D2, E1 e E2, foram um indicativo da presença de *Salmonella spp.* ou *Shigella spp.* e necessitaram posterior identificação destas colônias.

Na segunda fase do processo, as colônias foram submetidas ao teste bioquímico, para identificação dos gêneros da família Enterobacteriaceae presentes nas amostras. Os resultados estão presentes na tabela 2. As 27 colônias isoladas que foram classificados como bactérias da família Eterobacteriacea, das quais 40% eram do gênero *Enterobacter* e 11% do gênero *Citrobacter*, e 15% do gênero *Klebsiella*.

Tabela 2 – Frequência e classificação dos agentes isolados nos panos de prato, por meio da técnica de identificação bioquímica, coletados em açougues da cidade de Londrina e região, no período de agosto 2019 a março 2020.

GÊNERO	NUMERO DE ISOLADOS/ TOTAL	%	GÊNERO/ AMOSTRA
<i>Enterobacter</i>	11/27	40%	A,B,D,E
<i>Citrobacter</i>	3/27	11%	A,C
<i>Escherichia coli</i>	3/27	11%	B,D
<i>Hafnia</i>	1/27	4%	C
<i>Klebsiella</i>	4/27	15%	A,B,C
<i>Proteus</i>	1/27	4%	D
<i>Serratia</i>	1/27	4%	A
<i>Shigella</i>	3/27	11%	A,B

Nos estabelecimentos B e D foram os únicos locais onde se identificaram a presença da bactéria *Escherichia coli*. Esta bactéria está presente no trato gastro-intestinal de mamíferos e aves, e é uma bactéria gram-negativa, quando presente no alimento e no ambiente de produção, é indicador de contaminação fecal e falta de higiene em especial dos manipuladores (SCHUOFF et al., 2014). A *E. coli* apresenta características específicas quando semeada em ágar MacConkey, observando-se coloração vermelho/rosado devido á fermentação da lactose (KONEMAN, 2008), como observado nas figuras abaixo.

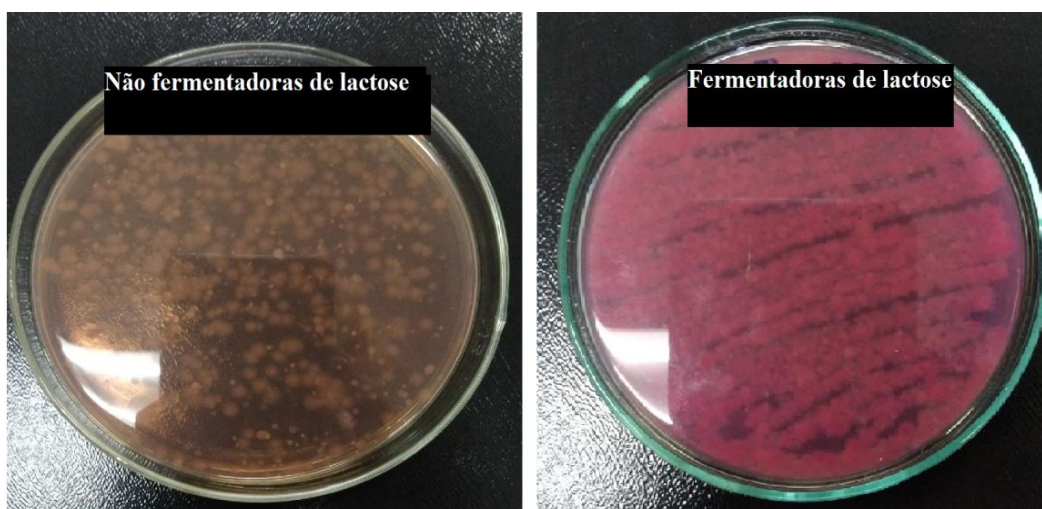


Figura 2: Placas contendo ágar MacConkey, demonstrando presença da fermentação de lactose.

Imagens: arquivo pessoal

A identificação da espécie *E. coli* no exame bioquímico, apresentou os resultados: Produção de gás a partir da fermentação de glicose, lactose, indol, lisina positivas, motilidade positiva exceto em casos de *E. coli* enteroinvasora e H₂S, citrato e urease negativa. Os resultados foram interpretados através de tabela referenciada por Koneman (2008).

Embora o estabelecimento B, tenha uma melhor estrutura física e a presença de veterinário RT quando comparado ao estabelecimento do grupo D, verifica-se que em ambos as atividades realizadas estão com certo risco operacional, e que a presença de medico veterinário no grupo A,B,C não demonstrou eficácia sobre os açougues sem veterinário RT e portanto há uma falha nos cuidados de higiene do setor, e ainda, que estes funcionários precisam de orientações mais eficazes quanto a forma correta de manipulação dos alimentos e os cuidados com a higiene.

No antibiograma, os fármacos que mostraram maior eficácia contra os isolados de *E. coli* foram, ciprofloxacina, gentamicina, cloranfenicol, enrofloxacin, azetronam, cefalexina, imipenem, ceftazidima, cefepime e sulfazotrim. As amostras de *Escherichia coli* isoladas denominadas D9 e B7, apresentaram sensibilidade intermediária aos antimicrobianos cefotaxima e cefazolina respectivamente e a amostra D4 foi sensível a todos os antimicrobianos testados.

Os antimicrobianos cefazolina e cefotaxima, portanto, não apresentaram 100% de eficácia sobre as bactérias da espécie *E. coli* testadas. Com relação a cefazolina 66% das amostras foram sensíveis, e cefotaxima 66% apresentaram sensibilidade.

Um importante fator deste trabalho, foi a identificação como demonstrado por Martins (2020), que a distribuição do conhecimento em boas práticas de manipulação e a legislação atual, não estão sendo satisfatórias. O trabalho demonstrou que 72% dos estabelecimentos não possuíam veterinários responsáveis ou equipe de consultoria para instrução em boas práticas, e este resultado foi observado nas colheitas do grupo 2, onde o mesmo não ocorria, originando resultados que levam a contaminação do ambiente e do produto.

Como descrito por Battaglini (2012) e observado neste trabalho, o uso dos panos de prato nos setores de manipulação, embora proibidos por legislação, é uma atividade comum dentro dos setores. Frequentemente a contagem microbiológica em panos de prato são altas, e desta forma podem facilmente disseminar esses microrganismos por todo o setor. Também descreveu que a colheita de forma superficial só demonstra que os

resultados verdadeiros provavelmente indicariam contagens e presença de microrganismos muito mais alta.

Conclusão

Como foi encontrado a presença de diversas bactérias da família Enterobacteriaceae, que possuem grande importância para saúde humana, e dois estabelecimentos de seis a presença de *Escherichia coli*, demonstrou-se a necessidade de implementar medidas mais eficazes de higiene dos manipuladores e dos utensílios utilizados para manipulação. Com tudo, considera-se que as medidas de higiene dos estabelecimentos que participaram da pesquisa não se mostram eficazes e desta forma, e ainda, demonstraram que nem sempre a presença do Veterinário é segurança de ensino e qualidade nas boas práticas de manipulação, portanto recomenda-se a implementação de cursos de capacitação dos manipuladores de formas inovadoras a fim de corrigir os problemas referentes às práticas de higiene e capacitação da equipe responsável pela fiscalização e exigências nas normas legislativas existentes. Os demais resultados alertaram para a importância do conhecimento e estudo da resistência bacteriana com relação aos antibióticos existentes e suas formas de transmissão pelos alimentos ao homem.

Agradecimentos

Agradeço a toda equipe do laboratório de bacteriologia básica e aplicada da Universidade Estadual de Londrina, principalmente ao professor Gerson Nakazato e a aluna de mestrado Miriam Dimbo, pelo acompanhamento durante toda pesquisa e ensino das técnicas necessárias. Agradeço ao conhecimento em especial a colega de mestrado Jessica Cantarini, que me auxilia e apoia desde o início deste estudo. E demais participantes de toda pesquisa e família que me apoia de forma contínua.

Referências

1. AGUIAR, C; PEREIRA, L.; MAZZONETTO, C.; SIMONY, R.F.; GINEFRA, I.; MARÇAL, T. Implementação de boas práticas de manipulação em uma creche do município de São Paulo. **Cadernos do Centro Universitário São Camilo**, São Paulo, v.12, n.1, p.47-57, 2006.

2. ANDRADE, N.J.; SILVA, R.M.; BRABES, K.C.S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciênc. Agrotec** [Online], ISSN 1413-7054, Lavras - MG, v.27, n.3, p.590-596, 2003. Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542003000300014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 15 de Abril de 2020.
3. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR 10203: preparo da amostra para exame microbiológico. Rio de Janeiro: mar. 1988. 3 p.
4. BATTAGLINI, A.P.P; FAGNANI, R; TAMANINI, R; BELOTI, Vanerli. Qualidade microbiológica do ambiente, alimentos e água, em restaurantes da Ilha do Mel/PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 741-754, abr. 2012.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 1997.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. 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**, Brasília (DF), 2004.
7. CARMINE, A.A.; BROGDEN, R.N., HEEL, R.C.; SPEIGHT, T.M.; AVERY, G.S. Cefotaxime: A review of its antibacterial activity, Pharmacological properties in therapeutic use. *Drugs* 25, p. 223–289, 1983. Doi: <https://doi.org/10.2165/00003495-198325030-00001>.
8. CAZEDEY, E.C.L. **Análise químico-farmacêutica de cloridrato de ciprofloxacino em solução oftálmica**. 179. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara – SP, 2009.
9. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 28ª edição. Wayne- USA, CLSI supplement M100S, 2018, 296p.
10. KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico**. 6ª edição. Local: Guanabara- Koogan, 2008.
11. MACEDO, K.H; SILVA, C.R.D; DAMBROZIO, A.M.L; KLEIN, A.L; OLIVEIRA, W.D.D; SANCHES, M.S; ROCHA, S.P.D; OCAÑA, A.N; PELAYO, J.S. Caracterização de *Escherichia coli* diarréico-gênica isolada de água subterrânea para consumo humano em um assentamento rural. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 41, n. 2, p. 263-272, 2020.

12. MARMENTINI, R.P.; ALVARENGA, V.O.; RONQUI, L. **Manual de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos**. Universidade Federal de Rondônia – UNIR, 2010. Disponível em: <<http://www.facimed.edu.br/site/.../8770b901b3aff4febc857ec524d8cb40.p>>. Acesso em 08 de abril de 2019.
13. MARTINS, G.C.G; BUCHINI, J.L.C; MARZOLA, I.P; AMORIM, A.R; GOBETTI, S.T.C; MARÇAL, W.S. Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.14, n. 2, p. 185 – 195, abr – jun, 2020.
14. PASSOS, E.C.; ALMEIDA, C.S; ROSA, J.P.; ROZMAN, A.R.P.M.; SOUZA, C.V.; PASCHOAL, R.C.; TAVARES, M. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. vol.67, n.3, p. 237-240, 2008.
15. PINHEIRO, M.B.; WADA, T.C.; PEREIRA, C.A.M. Análise Microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Revista Simbio Logias**, São Carlos, v.3, n.5, p. 115-124, 2010.
16. SANTOS, P.M.S.; KOURI, S; MELLO, L.A.O. **Análise microbiológica pré e após treinamento de manipuladores de alimento de uma panificadora**. In: XIINIC Encontro Latino Americano de Iniciação científica; XI EPG Encontro Latino Americano de Pós Graduação; V INIJr Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior, 2011, São José dos Campos – SP, Anais... José dos Campos: Univap – Urbanova, 2011, 4p.
17. SCHUOFF, P. A; LIMA, N.R; BURGOS, T.N; LOPES, A.M; PELAYO, J.S. Qualidade microbiológica da água do Lago Igapó de Londrina - PR e caracterização genotípica de fatores de virulência associados a Escherichia coli enteropatogênica (EPEC) e E. coli produtora de toxina Shiga (STEC). **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.35, n.2, p.11, 2014.
18. SILVA, R. A. **Ciência do alimento: contaminação, manipulação e conservação dos alimentos**. 2012. 37p. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós Graduação em Ensino em Ciências) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira - PR, 2012.
19. TEIXEIRA, P.; SILVA, S.C.; ARAÚJO, F.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Bacterial Adhesion to Food Contacting Surface In: MÉNDEZ-VILAS. **Communicating Current Research and Education Topics and Trends in Applied Microbiology**. A. ed. Portugal: Formatex, 2007.
20. TODD, P.E.; BROGDEN, R.N. Cefotaxime: Na update of its pharmacology and therapeutic use. *Drugs* 40, p.608–651, 1990. **Doi:** <https://doi.org/10.2165/00003495-199040040-00008>

CONCLUSÃO GERAL

O desenvolvimento deste trabalho me possibilitou por em prática na rotina como responsável técnico as normas e Boas Práticas de Manipulação e Fabricação de forma mais clara e praticável pelos trabalhadores, os dados deste trabalho me mostraram que diversos pontos dentro das Boas Práticas de Manipulação e Fabricação precisam ser transmitidos de formas mais assertivas e inovadoras. Este trabalho conseguiu demonstrar que mesmo com a presença de Médico Veterinário Responsável Técnico nos estabelecimentos, não se garantiu a qualidade no trabalho e Boas Práticas de Manipulação e Fabricação dos estabelecimentos envolvidos, ou seja, todo o trabalho esta relacionado com a sua qualidade e não apenas a sua presença no estabelecimento. Além disto, demonstrou que a inovação no conhecimento dos próprios veterinários a campo e da vigilância sanitária devem aumentar e exigir que todos os estabelecimentos possuam manipuladores com atualização frequente e cursos em Boas Práticas de Manipulação e Fabricação, que melhore a fiscalização municipal e que o conhecimento acesse também a população de forma que eles possam exigir e buscar alimentos mais seguros e saudáveis.

ANEXO A

TERMO DE LIBERAÇÃO DA PESQUISA E COLETA MATERIAL

Prezado(a) Senhor(a) Esta pesquisa é sobre a Mensuração Bacteriana nos panos Higienização nos setores de Açougue da Região de Londrina. Está sendo desenvolvida por Giovanna Caroline Galo Martins em parceria com os setores de Microbiologia do Centro de Biologia e Centro de Ciências Veterinárias, do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Londrina, sob a orientação dos Professores: Wilmar Marçal e Gerson Nakazato.

Os objetivos deste estudo são: Trazer correta orientação sobre a utilização inadequada dos panos de tecido na rotina de manipulação, mostrar de forma prática e laboratorial a capacidade contaminante deste tecido aos produtos e equipamentos utilizados nos setores de manipulação, sendo um exemplo prático para a importância dos manipuladores participarem dos cursos de Boas práticas de Manipulação e seguir as normas vigentes. A finalidade deste trabalho é contribuir para a comunidade e empresas com resultados teóricos coletados da rotina da região, mostrando de forma prática aos manipuladores e as empresas a importância da informação e correta manipulação e higienização tanto das mãos quanto dos equipamentos utilizados nos setores de manipulação.

Solicitamos a sua colaboração e autorização para a coleta dos materiais como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, o nome da empresa e trabalhadores será mantido em sigilo absoluto.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na instituição. O pesquisador estará a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Assinatura do Responsável Estabelecimento

Assinatura do Pesquisador Responsável

Considerando, que fui informado(a) dos objetivos e da relevância do estudo proposto, de como será minha participação, dos procedimentos e riscos decorrentes deste estudo, declaro o meu consentimento em participar da pesquisa, como também concordo que os dados obtidos na investigação sejam utilizados para fins científicos (divulgação em eventos e publicações). Estou ciente que receberei uma via desse documento.

Contato com o Pesquisador(a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para o(a) pesquisador(a) 43999770566; CRMV PR 15989; Email: Vetgiovannamartins@hotmail.com

ANEXO B

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS **Revista Brasileira De Higiene e Sanidade Animal** (*Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity*)

A **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal** - Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity, é um órgão oficial de divulgação do Colégio Brasileiro de Ultrassonografia Animal (CBUA), entidade sem fins lucrativos com início em 2019, CNPJ 33.210.465 0001 - 26 e Universidade Federal do Ceará (UFC) desde 2007. Tem como objetivo publicar temas relativos ao estudo das principais doenças infecciosas, contagiosas e parasitárias emergentes. Saúde pública veterinária / saúde pública humana – zoonoses, como também na aplicação de diagnósticos (ultrassom) de patologias em diversas espécies animais bem como de assuntos correlatos. A revista tem periodicidade trimestral. Os trabalhos podem ser submetidos em língua portuguesa, inglesa e espanhola.

O envio dos trabalhos deverá ser feito por e - mail (rev.hig.san@gmail.com), juntamente com a carta de encaminhamento e a taxa de pagamento, constando o endereço completo da Instituição e E-mail do autor ou autores correspondentes ao artigo. Este periódico não faz qualquer restrição à titulação acadêmica mínima para submissão de trabalhos e a avaliação é por dois ou três revisores ad hoc e pelo Corpo Editorial.

O conteúdo dos artigos publicados é de exclusiva responsabilidade de seus autores e os direitos de publicação são da RBHSA, sendo o conteúdo disponibilizado com acesso livre na Internet (www.higieneanimal.ufc.br). Este periódico oferece a todos os pesquisadores acesso eletrônico livre para consulta de todos os trabalhos, desde seu primeiro volume publicado em 2007. Qualis CAPES - 2015 - Ensino: B3, Engenharia III B4.

Custo de publicação

No ato da submissão é requerido um depósito de R\$ 250,00 (duzentos e cinquenta reais) não reembolsáveis para compor as despesas com a editoração, publicação e atribuição do Digital Object Identifier - DOI.

Se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial, a taxa paga não poderá ser reutilizada para outras submissões dos autores e nem tampouco a devolução do depósito já efetuado. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado via e-mail da RBHSA (rev.hig.san@gmail.com).

Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome do: COLÉGIO BRASILEIRO DE ULTRASSONOGRRAFIA ANIMAL (CBUA) – CNPJ – 33.210.465.0001 - 26 - Banco do Brasil: Agência bancária: 3655-2 - Conta corrente: 75.042-5.

Digitação:

O trabalho deverá ser digitado em tamanho A 4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaçamento entre linhas 1,5 linhas, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras. 2 Estrutura O artigo científico deverá ser redigido obedecendo a seguinte ordem de estrutura: título, title, autores, resumo (incluindo termos para indexação), abstract (incluindo index terms), introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências bibliográficas. Notas científicas não necessitam obedecer a estrutura do artigo, mas devem ter, obrigatoriamente, resumo (incluindo termos para indexação), title e abstract (incluindo index terms).

Título:

Deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página. A chamada de rodapé sem traços para identificação deve ser extraída do título, devendo constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências a instituições colaboradoras. Os títulos das demais seções da estrutura deverão ser escritos com apenas a inicial maiúscula, em negrito, localizados no início da linha.

Autores:

Os nomes completos deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como chamada de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, a formação acadêmica, instituição onde trabalha e endereço eletrônico. Resumo e abstract Devem começar com estas palavras, na margem esquerda, com apenas a inicial maiúscula, em negrito, contendo no máximo 250 palavras cada e entre três e cinco termos para indexação, os quais não devem constar no título. Citação de autores no texto Serão feitas pelo sobrenome, com apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do ano de publicação. Citação com apenas um autor usar da seguinte forma: Santos (2002) ou (Santos, 2002); com dois autores, usar Pereira & Freitas (2002) ou (Pereira & Freitas, 2002); com três ou mais autores, usar Xavier et al. (1997) ou (XAVIER et al., 1997).

Tabelas:

Serão denominadas de Tabela (em negrito), numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta.

Figuras:

Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura (em negrito) sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows” (“Excel”, “Power Point”, “Harvard Graphics”, etc.). Gráficos e figuras confeccionadas em 3 planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Fotos e desenhos devem ser digitalizados; escaneados com 300 dpi, gravados em arquivo nos formatos TIF ou JPG e enviados em arquivos separados do arquivo de texto. Evitar tabelas e figuras com largura superior a 17 cm.

Agradecimentos:

Logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz. Referências Bibliográficas Deverão ser apresentadas em ordem alfabética de autores e numeradas de acordo com a NBR 6032 de agosto/2000 da ABNT e conter os nomes de todos os autores.

Referências:

São utilizadas para convencer o leitor acerca da validade dos fatos e argumentos apresentados. Quando adequadamente escolhidas, fornecem maior credibilidade ao trabalho. Observação: deve-se priorizar a citação de referências atualizadas, ou seja, publicadas nos últimos cinco anos, considerando o momento da submissão do manuscrito. Devem ser citadas de periódicos científicos indexados em bases de dados nacionais e internacionais que foram consultadas na íntegra pelo autor e que tenham relação direta, relevante com o assunto abordado; Não incluir na lista referências que não possam ser recuperadas no original pelo leitor, como teses e dissertações, trabalhos de conclusão de curso e outras fontes inacessíveis (apostilas, anais etc.) ou obras de reduzida expressão científica. A atualidade da referência, isto é, a citação de obras recentes, com menos de cinco anos, é essencial em artigos originais; As referências a artigos publicados em periódicos latino-americanos e que possuem versão em inglês, deverão ser citadas com o título em inglês; Não incluir mais de 20 referências e menos de 15. Todas enumeradas.

ANEXO C**INFUSÃO DE CÉREBRO-CORAÇÃO
BRAIN-HEART INFUSION (BHI)**

Fórmula/Litro Infusão Cérebro-Coração.....17,5g
Digestão Enzimática de Gelatina.....10g
Dextrose.....2g
Cloreto de Sódio.....5g
pH Final:7,4 ± 0,2 a 25°C

Modo de Preparo

1. Dissolva 37g do meio em 1L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente para dissolver completamente o meio.
3. Autoclave a 121°C por 15 minutos.

Oxoid, USA

ANEXO D**ÁGAR MACCONKEY**

Fórmula/Litro Peptona de Caseína.....	1,5g
Peptona de Carne.....	1,5g
Peptona de Gelatina.....	17g
Sais Biliares (mistura).....	1,5g
Lactose.....	10g
Cloreto de Sódio.....	5,0g
Vermelho Neutro.....	0,03g
Cristal Violeta.....	0,001g
Ágar.....	13,5g
Água Destilada.....	1000 ml

pH Final: 7,1 ± 0,2

Oxoid, USA

ANEXO E

MEIO EPM-MILi

Fórmula

Citrato de ferro amoniacal.....	2g
Tiosulfato de sódio.....	2g
Dextrose.....	10g
Uréia.....	40g
Nutrientes.....	23g
Agar.....	11 g
Cloreto de sódio.....	5g
Fosfato dissódico.....	2g
L-triptofano.....	1g
Azul de bromotimol.....	0,03g
Água Destilada.....	1000 ml
pH 7,4± 0,2 a 25°C	

Digesto Pancreático de Caseína.....	10,0g
Extrato de levedura	3,0g
Peptona.....	10,0g
L- Lisina.....	10,0g
Dextrose.....	1,0g
Citrato férrico amoniacal.....	0,5g
Púrpura de bromocresol.....	0,02g
Ágar.....	2,0g
Água Destilada.....	1000 ml
pH 6,6 ± 0,2 a 25°C	

Indicação

Kit para identificação bioquímica de bactérias da Família Enterobacteriaceae.

Laborclin, BR

ANEXO F

ÁGAR CITRATO DE SIMMONS

Fórmula/Litro Diidrogenofosfato de Amônia.....	1g
Hidrogenofosfato Dipotássico.....	1g
Cloreto de Sódio.....	5g
Citrato de Sódio.....	2,5g
Sulfato de Magnésio.....	0,2g
Azul de Bromotimol.....	0,08g
Ágar-Ágar.....	15g
Água Destilada.....	1000 ml
pH Final: 6,8 ± 0,2	

Indicação

É utilizado na identificação de bactérias, principalmente as enterobactérias, que utilizam o citrato como fonte de carbono.

Oxoid, USA