

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

**COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE HIGIENIZAÇÃO DE
ALFACE (*Lactuca sativa*) UTILIZADOS EM RESTAURANTES DE PORTO
ALEGRE - RS**

Ana Beatriz Almeida de Oliveira
Nutricionista

Porto Alegre

2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

**COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE HIGIENIZAÇÃO
DE ALFACE (*Lactuca sativa*) UTILIZADOS EM RESTAURANTES DE
PORTO ALEGRE - RS**

ANA BEATRIZ ALMEIDA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada como requisito
parcial para obtenção do grau de Mestre
em Microbiologia Agrícola e do Ambiente
na área de Microbiologia dos Alimentos
Orientador: Marisa R. de I. Cardoso

Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil
Junho, 2005

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS DE HIGIENIZAÇÃO DE ALFACE (*Lactuca sativa*) UTILIZADOS EM RESTAURANTES DE PORTO ALEGRE - RS¹.

Autor: Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Orientadora: Profa. Dr^a Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de protocolos de higienização de alface adotados em restaurantes de Porto Alegre. Numa primeira etapa foram aplicados questionários em restaurantes de dois bairros da cidade, a partir dos quais definiram-se os tratamentos a serem testados. Na segunda fase, amostras de alface crespa, adquiridas no comércio, foram submetidas a: lavagem com água (T₁); imersão em água (T₂); imersão em solução de água sanitária (200ppm de cloro livre) por 15 minutos (T₃); e por 30 minutos (T₄); imersão em solução de vinagre a 2% (T₅); e a 20% (T₆). Todos os tratamentos foram realizados em dez repetições. A média da redução (\log_{10}) obtida variou de 0,64 (T₁) a 2,46 (T₄) para mesófilos aeróbios e de 1,09 (T₂) a 2,34 (T₄) para coliformes totais. A partir disso, verificou-se que o protocolo adotado na maioria dos restaurantes (imersão em água) não garantiu uma redução importante na população microbiana (0,75 \log_{10} UFC/g para mesófilos aeróbios) enquanto T₄ foi o mais eficaz para a higienização das alfaces.

1 Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Microbiologia de Alimentos. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. RS. Brasil (66p.) Junho de 2005.

COMPARATION OF DIFFERENT PROTOCOLS USED FOR DISINFECTIONS OF LETTUCE (*Lactuca sativa*) IN RESTAURANTS OF PORTO ALEGRE (BRAZIL)

Author: Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Advisor: Prof^a Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, PhD

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of protocols used for lettuce disinfection in restaurants of Porto Alegre city. In a first phase questionnaires were conducted in restaurants located in two districts of the city. The most used protocols were tested in the second phase. Samples of lettuce were purchased from different retail outlets and submitted to one of the treatments: washing with tap water (T₁); dipped for 30 minutes in tap water (T₂); dipped in aqueous solution of sodium hypochlorite (200 ppm of free chlorine) for 15 minutes (T₃); in the same solution for 30 minutes (T₄); dipped for 15 minutes in aqueous solution of vinegar 2% (T₅); and 20% (T₆). Each experiment was performed 10 times. The average reduction (log₁₀) varied from 0,64 (T₁) to 2,46 (T₄) for mesophilic aerobic and from 1,09 (T₂) to 2,34 (T₄) for total coliforms. Based on the results, it was concluded that the protocol used in most of the restaurants (T₂) was not able to assure an important reduction on the microbial population, while T₄ showed the best effectiveness for lettuce disinfection.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLOGRÁFICA	4
2.1 Alface.....	4
2.2 Coliformes totais e fecais.....	5
2.3 Legislação.....	7
2.4 Fatores que influenciam a contaminação da alface.....	7
2.5 Contaminação da alface comercializada.....	9
2.6 Sanitizantes e a higienização de vegetais.....	11
2.7 Análise de vegetais crus prontos para consumo.....	16
2.8 Surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA).....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Coleta de dados por questionários.....	21
3.2 Teste dos protocolos de lavagem de alface adotados nos restaurantes comerciais do Centro e Moinhos de Vento.....	22
3.2.1 Preparação das diluições do material analisado.....	24
3.2.2 Contagem de mesófilos totais.....	24
3.2.3 Contagem de coliformes totais.....	25
3.2.4 Contagem de coliformes termo-tolerantes.....	25
3.2.5 Cálculo da redução da contagem de coliformes e mesófilos totais.....	26
3.2.6 Análise estatística.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Entrevista nos restaurantes.....	27
4.2 Comparação dos protocolos de higienização de alface utilizados nos restaurantes visitados.....	38
5 CONCLUSÕES.....	49
6 PERSPECTIVAS.....	50
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
8 APÊNDICES	59
8.1 APÊNDICE 1.....	60
8.2 APÊNDICE 2.....	62
8.3 APÊNDICE 3.....	64

RELAÇÃO DE TABELAS

TABELA 1	Distribuição dos restaurantes em dois bairros de Porto Alegre (Centro e Moinhos de Vento) de acordo com o número diário de refeições servidas.....	28
TABELA 2	Respostas obtidas para itens relacionados à produção e distribuição de saladas em questionários aplicados em restaurantes de dois bairros, de Porto Alegre, 2004.....	31
TABELA 3	Distribuição percentual dos restaurantes visitados em dois bairros de Porto Alegre quanto ao tipo de alface oferecida no bufê	33
TABELA 4	Distribuição percentual dos restaurantes visitados quanto a existência de treinamento, manual de boas práticas e responsável técnico.....	36
TABELA 5	Número médio e mediano de mesófilos aeróbios e coliformes totais, encontrados em amostras de alface crespa, submetidas a diferentes tratamentos.....	39
TABELA 6	Média (\log_{10} UFC/g) e redução (\log_{10}) de mesófilos aeróbios e coliformes totais em amostras de alface crespa submetidas a diferentes tratamentos.....	41
TABELA 7	Média de mesófilos aeróbios e coliformes totais após tratamento de amostras de alface com sanitizantes e a redução em relação à contagem inicial, obtidas no presente estudo em comparação com o realizado por Nascimento et al., 2003b.....	44
TABELA 8	Percentual de redução de cada tratamento em relação ao T ₁ (lavagem com água) em ordem crescente de eficácia.....	46

RELAÇÃO DE FIGURAS

FIGURA 1	Distribuição dos restaurantes visitados nos bairros Moinhos de Vento e Centro, quanto ao preço cobrado pelo almoço.....	29
FIGURA 2	Distribuição dos estabelecimentos de acordo com o tipo de tratamento adotado para sanitização das alfaces servidas no bufê..	29

1 INTRODUÇÃO

O consumo de hortaliças vem aumentando nos últimos anos devido à crescente demanda por uma alimentação saudável; composta por produtos naturais, sem aditivos químicos, ricos em fibras e de baixa caloria, como é o caso dos folhosos ou hortaliças.

Por outro lado, as hortaliças podem ser veículos potenciais de microrganismos patogênicos, constituindo um importante grupo de produtos envolvidos em doenças transmitidas por alimentos.

Por esta razão, a lavagem e desinfecção são etapas consideradas particularmente críticas e fundamentais para a qualidade e segurança microbiológica dos vegetais consumidos crus. O estudo desta etapa crítica e o aprimoramento dos protocolos existentes são de importância para Saúde Pública, pela possibilidade de minimizar as causas de toxinfecções alimentares.

A qualidade da higienização das hortaliças depende da atividade do sanificante e de fatores tais como concentração, solubilidade, quantidade de microrganismos presentes na matéria prima, assim como da disponibilidade e treinamento do manipulador.

Diversos fatores de risco, como a contaminação cruzada, a higienização mal feita, o tempo de espera para o consumo e a temperatura em

que o alimento se encontra, podem permitir que o microrganismo se multiplique até atingir doses infectantes. Portanto, quanto menor for o número de microrganismos após a higienização e desinfecção, menor será a possibilidade de ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos.

Mesmo em empresas de refeições coletivas, com certificação da ISO 9002, baseadas em manual técnico de qualidade para as Boas Práticas de Fabricação, é possível encontrar, em algumas ocasiões, amostras de alface que se apresentam inadequadas para consumo devido à contagem de coliformes termo-tolerantes. Os coliformes termo-tolerantes e totais, por sua vez, são microrganismos usados como indicadores de qualidade higiênico-sanitária de produtos. Principalmente os coliformes termo-tolerantes são considerados indicadores de contaminação fecal dos produtos, o que representa um risco de presença de microrganismos causadores de toxinfecções alimentares.

Uma vez que higienização inadequada pode ocorrer mesmo em cozinhas industriais onde os procedimentos de higienização estão estabelecidos em manual de Boas Práticas de Fabricação, surge o questionamento a respeito das práticas seguidas em restaurantes de menor porte, que trabalham em sistema de bufê livre ou a peso.

Este segmento, por sua vez, assume grande importância na vida moderna, pois uma parcela cada vez maior da população realiza refeições fora do seu domicílio. Ao lado disto, constata-se a grande variabilidade entre estabelecimentos quanto ao número de refeições servidas, instalações e nível

do pessoal envolvido no preparo dos alimentos. Esta variabilidade deve implicar na desuniformidade nos diversos procedimentos adotados, no preparo dos alimentos, inclusive na higienização das hortaliças.

A partir disso, o objetivo do presente estudo foi, tomando a alface como modelo, coletar informações sobre os protocolos de higienização adotados em restaurantes de dois bairros de Porto Alegre. Posteriormente, o estudo testou, experimentalmente, os protocolos adotados pelos estabelecimentos, verificando se os mesmos permitiam alcançar a redução de coliformes e mesófilos aeróbios totais presentes em amostras de alface adquiridas no comércio.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alface

A alface (*Lactuca sativa*) é a verdura folhosa mais consumida pelos brasileiros. Utiliza-se a denominação de verdura, quando as partes comestíveis do vegetal são as folhas, as flores, os botões ou as hastes. De acordo com a parte comestível da planta, as verduras podem ser classificadas em folhas ou folhosos, sementes, raízes e tubérculos, bulbos, flores, frutos e caules (PHILIPPI, 2003).

Sua origem é asiática, mas já era conhecida por egípcios, gregos e romanos. Acredita-se que foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI. Além de possuir sabor agradável, possui vitaminas e sais minerais, fornece apenas 15 calorias em cada 100g e apresenta efeito calmante (YAÑES, 2003).

No Estado de São Paulo, o cultivo da alface ocupa 7.859 hectares, sendo produzidas 137 mil toneladas/ano e gerando mais de 6.000 empregos. A cultura da alface apresenta alto grau tecnológico, sendo comuns as práticas de produção em estufa, hidroponia e cultivo orgânico, que permitem obter verduras de qualidade durante o ano todo. As variedades disponíveis são a alface lisa, a americana, a romana, a crespa e a roxa (CEASA/CAMPINAS, 2003; PHILIPPI, 2003).

2.2 Coliformes totais e fecais

Microrganismos indicadores são, segundo Franco & Landgraf (1996), grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento. Além disso, podem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

O termo microrganismo indicador pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismos, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente, é associado a microrganismos de origem intestinal, porém outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações (FORSYTHE, 2002).

De forma ideal, um indicador de segurança alimentar deve apresentar certas características importantes segundo Jay (2005):

- a) ser detectável de forma fácil e rápida;
- b) ser facilmente distinguível de outros membros da microbiota do alimento;
- c) possuir um histórico de associações constantes com o patógeno cuja presença visa indicar;
- d) estar sempre presente quando o patógeno de interesse estiver presente;

- e) ser um microrganismo cujas contagens sejam correlacionadas às quantidades do patógeno de interesse;
- f) possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno;
- g) possuir taxa de mortalidade que seja ao menos paralela à do patógeno e, de preferência, que persista por mais tempo do que este último;
- h) estar ausente dos alimentos que são livres de patógenos, ou se estiver presente deverá estar em baixas contagens;

Os microrganismos indicadores usualmente utilizados são os coliformes, *E. coli*, enterobactérias e estreptococos fecais (FORSYTHE, 2002).

O grupo de coliformes totais é formado por bacilos Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C (JAY, 2005).

O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias entéricas, como diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo (SILVA et al., 1997).

Já a presença dos coliformes fecais no alimento indica contato direto ou indireto com associações microbianas encontradas no intestino humano ou animal, podendo estar associada à presença de outros organismos patogênicos. Os coliformes são encontrados freqüentemente no trato intestinal do homem e dos animais como cães, gatos, suínos, bovinos, aves, répteis e roedores, sendo a *Escherichia coli* a principal representante deste grupo (BANWART, 1989).

Com o objetivo de diferenciar os coliformes fecais dos não fecais, utiliza-se a característica de termo-tolerância dos coliformes fecais. Desta forma, esse grupo pode ser detectado através da fermentação da lactose em meio EC, com produção de gás, no período de 48 horas, a 45,5°C, sendo denominados coliformes termo-tolerantes (FORSYTHE, 2002).

2.3 Legislação

A Resolução RDC nº12 da ANVISA de 02 de janeiro de 2001 determina que as hortaliças deverão ter ausência de *Salmonella* em 25 g. Hortaliças frescas, “in natura” preparadas (selecionadas ou fracionadas) sanificadas, refrigeradas, para consumo direto devem obedecer a um padrão microbiológico no qual a presença permitida de bactérias do grupo de coliformes termo-tolerantes é, no máximo, 10^2 /g do alimento (BRASIL, 2001).

2.4 Fatores que Influenciam a Contaminação da Alface

Em comparação com os riscos biológicos associados a outros vegetais e frutas, a alface, seguidamente, pode oferecer maior risco. Muitos fatores contribuem para incrementar o risco biológico atribuído à alface. Estes fatores incluem um ciclo de produção curto, a colheita manual, um período curto de armazenagem após a colheita, uma grande superfície de área das folhas e um produto que se consome cru (CANADA, 2001).

As associações microbianas que produzem alterações nos vegetais frescos são diferentes das que produzem alterações nos alimentos protéicos. Uma vez que as hortaliças são ricas em pectina e celulose, adquirem um maior significado os microrganismos capazes de atacar estes hidratos de

carbono de elevado peso molecular, entre eles *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* e *Corynebacterium* (MOSSEL, 1982).

O cultivo tradicional de hortaliças, utilizando canteiros de terra, faz com que o vegetal fique em contato com o solo durante todo o seu desenvolvimento. Além disso, o ambiente úmido, associado aos adubos orgânicos, constituídos de fezes animais, favorece a contaminação destes alimentos, ao contrário do que acontece na adubação química (SIQUEIRA, 1997).

A lavagem da alface com a própria água de irrigação contribui, em muito, para o aumento da carga bacteriana. Este fato é agravado quando esse procedimento é realizado em tanques contendo a água de irrigação, principalmente após sucessivas lavagens (BONILHA, 1992).

Em análise de amostras de águas de irrigação, de alface não lavada e de alface lavada com água tratada, coletadas em hortas da cidade de Araraquara, houve correlação significativa entre o grau de contaminação da água de irrigação e das hortaliças, principalmente em relação à presença de coliformes termo-tolerantes e de *Escherichia coli* (BONILHA & FALCÃO, 1993).

Roever (1998) concluiu que o solo, por si só, apesar de possuir bactérias próprias de sua constituição, não representa importante fonte de contaminação para as plantas. Mas, a transmissão de patógenos de origem fecal poderá surgir com o uso impróprio de águas de esgoto ou dejetos usados para a fertilização.

Amostras de alface coletadas diretamente dos canteiros de cultivo demonstraram ter contagens inferiores às amostras provenientes das mesmas hortas adquiridas em estabelecimentos comerciais. Talvez isto aconteça devido a práticas não higiênicas de tratamento das hortaliças, após a colheita e durante seu preparo para a venda, manipulação inadequada tanto do horticultor como do comerciante, além do transporte dessas hortaliças em recipientes sujos (BONILHA, 1992).

Em um surto de *Shigella sonnei*, associada ao consumo de alface americana, na Noruega, os fatores apontados como prováveis causas da contaminação do produto foram: a água de irrigação das alfaces com água poluída por esgotos; a fertilização com adubo orgânico ou dejetos humanos ou, ainda, intensas precipitações pluviométricas canalizando águas poluídas até a horta (KAPPERUD et al., 1995).

Normalmente, o exterior dos vegetais serve como uma barreira física, prevenindo que as bactérias penetrem no seu interior. Uma vez que a integridade da superfície seja quebrada, bactérias se multiplicam mais rapidamente. Desta forma, cortar ou fracionar os vegetais, tornam os mesmos mais vulneráveis à decomposição microbiana (ROEVER, 1998).

Os microrganismos na superfície dos produtos frescos refletem o ambiente de onde este produto foi originado e a contaminação dos mesmos pode acontecer em todos os estágios do processamento. Sendo assim, é importante implementar medidas de higiene na cadeia alimentar desde a produção até a mesa (JOHANNESSEN et al., 2002).

2.5 Contaminação da alface comercializada

Análises bacteriológicas de diferentes qualidades de hortaliças à venda no comércio em São Paulo revelaram que, das 41 amostras de alfaces analisadas, 53,6% apresentavam *Escherichia coli*, enquanto que *Salmonella* sp. estava ausente nas mesmas amostras. Na pesquisa parasitológica de ovos e larvas, os mesmos foram detectados em 32,3% das amostras de alfaces (GELLI, 1979).

A avaliação microbiológica e parasitológica de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto (SP), abrangendo todos os pontos de venda ao consumidor, demonstrou hortaliças com elevada contagem de coliformes termo-tolerantes (63%), com presença de *Salmonella* (9%) e de enteroparasitas (33%). Das 139 amostras de alfaces analisadas, 98 unidades (70%) estavam contaminadas, 52 (53%) apresentavam apenas contaminação microbiológica, em 2 (2%) foram encontrados apenas parasitas e 44 (45%) ambos os tipos de contaminação. A maioria das verduras contaminadas era procedente de hortas localizadas no município de Ribeirão Preto (TAKAYANAGUI et al., 2001).

Em outro estudo onde foram analisadas 42 amostras de alface não hidropônicas, na cidade de Limeira, 41 (97,6%) foram positivas para coliformes totais e 17 (40,5%) tinham a presença de *Escherichia coli*. Duas amostras (4,7%) apresentavam contagens de *Escherichia coli* fora dos padrões estabelecidos pela legislação vigente para este tipo de alimento (CABRINI, 2002).

Em avaliação da qualidade microbiológica, em alimentos adquiridos no comércio de Piracicaba – SP, a alface e o tempero verde foram os alimentos que apresentaram os maiores níveis de contaminação (SILVA, 2002).

2.6 Sanificantes e a higienização de vegetais

Entende-se por desinfetante um agente normalmente químico que mata as formas vegetativas, mas não necessariamente as formas esporuladas de um microrganismo (PELCZAR JR et al., 1996).

No regulamento técnico do Mercosul, produtos com ação antimicrobiana sanificante são definidos como agentes/produtos que reduzem número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde (MERCOSUL/GMC, 2002).

O cloro é um sanificante e sua utilização poderá ser feita de forma orgânica e inorgânica. Os compostos clorados inorgânicos são os hipocloritos de sódio (líquido), de cálcio (sólido), de lítio, o cloro gás e o dióxido de cloro. Os orgânicos são a cloraminaT, a dicloraminaT, o dicloro dimetil hidantoína e o ácido tricloro isocianúrico.

O hipoclorito de sódio, por uma série de vantagens, como o preço, efeito rápido e efetividade numa variedade de microrganismos inclusive esporos, é bastante utilizado. O contato com a luz decompõe os produtos clorados e a temperatura elevada provoca sua volatilização. É importante também que o fornecedor indique corretamente o teor de cloro ativo e que o mesmo seja constante em todas as partidas vendidas para que seja possível

padronizar o método de diluição (ANDRADE & MACÊDO, 1996; SILVA JR, 2002).

O método recomendado por Silva Jr. (2002) para alimentos que serão ingeridos crus, como as hortaliças, é realizar a higienização em local apropriado, lavando as folhas individualmente em água corrente potável e retirar as porções deterioradas e a matéria orgânica que inibe a ação desinfetante. A seguir, colocar em imersão em água clorada, utilizando concentração entre 150 e 200 ppm de cloro orgânico ou hipoclorito de sódio próprio para consumo. Após, escorrer os resíduos, se possível, eliminando o sobrenadante. Finalmente, enxaguar ou imergir em água, ou vinagre a 2% por 15 minutos (SILVA JR, 2002).

Arruda, (1996) ao orientar a elaboração de Manuais de Boas Práticas coloca como procedimentos de rotina na higienização de vegetais:

- a) Lavagem em água corrente folha a folha;
- b) Imersão por 10 minutos em solução de hipoclorito de sódio, contendo 200 ppm de cloro ativo;
- c) Imersão por 5 minutos em solução de vinagre a 2% (200 mL de vinagre para 10L de água);
- d) Corte, montagem e decoração com uso de luvas de polietileno descartáveis;
- e) Espera para distribuição em câmara fria ou refrigerador na temperatura máxima de 10°C;

O Centro de Vigilância Sanitária de São Paulo, através da Portaria CVS -6/99, estabelece que na higienização de hortifrutigranjeiros, a pré-lavagem deve ser feita em água corrente potável e em local apropriado. Para o preparo destes gêneros, deve ser realizada a higienização completa que compreende: lavagem criteriosa em água potável; imersão em solução clorada por 15 a 30 minutos; e enxágüe em água potável.

Os produtos permitidos para desinfecção dos alimentos são hipoclorito de sódio a 2,0- 2,5% e o cloro orgânico, ambos em concentração de 100 a 250 ppm (SÃO PAULO,1999).

Em amostras de alface que foram submetidas a uma lavagem cuidadosa em água tratada, observou-se uma redução do grau de contaminação da ordem de 81,4% para coliformes totais, 99,9% para coliformes fecais e 97,4% para *Escherichia coli*. Apesar da redução obtida nas determinações de Número Mais Provável (NMP), os autores concluíram que apenas a lavagem em água corrente da torneira não é totalmente eficiente, principalmente se a carga microbiana inicial da alface for elevada (BONILHA & FALCÃO, 1993).

O cloro, principalmente o hipoclorito de sódio, é o desinfetante mais utilizado para vegetais, porém, outros agentes como o vinagre, o ácido acético, o ácido peracético começam a despertar cada vez mais o interesse das empresas, em função da controvérsia sobre a toxicidade de resíduos de cloro nos alimentos. Além disso, a literatura científica tem demonstrado que, embora muito eficaz na eliminação de microrganismos em suspensão (água), o

cloro nas concentrações recomendadas para essa finalidade (100-250ppm) reduz em torno de apenas dois ciclos logarítmicos as populações microbianas de frutas e vegetais (NASCIMENTO et al., 2003a).

A avaliação do efeito de vários desinfetantes, incluindo o cloro, não demonstrou eficiência dos mesmos sobre a *Listeria monocytogenes*, resultando apenas na redução de aproximadamente um log da população inicial (ZHANG & FARBER, 1996).

Behrsing et al. (2000), ao avaliarem a eficácia do cloro na inativação de *Escherichia coli* em vegetais, apontaram que o cloro reduz a população microbiana, entretanto não se pode assumir a completa eliminação de patógenos. Desta forma, recomendaram a utilização do cloro como um dos passos da completa higienização da alface, sem garantir que o produto será livre de bactérias.

O vinagre contém ácido acético em uma concentração mínima de 4% e é bastante utilizado na desinfecção de verduras e frutas em nível doméstico, geralmente diluído a 6% em água (NASCIMENTO et al., 2003b).

Um estudo realizado com contaminação de alface com *Vibrio cholerae* e tratamento com soluções de ácido acético e de hipoclorito de sódio concluiu que o vinagre foi muito mais eficiente na inativação do *V. cholerae* que a solução de hipoclorito a 100ppm. A eficiência do vinagre, observada para *V. cholerae*, não se repetiu frente aos coliformes totais e fecais (EIROA & PORTO, 1996).

Sengun & Karapinar (2005) testaram sanificantes domésticos: vinagre, suco de limão e a mistura dos dois na eliminação de *Salmonella* Typhimurium, o suco de limão reduziu até 3,52 log₁₀ UFC/g, o vinagre até 3,12 log₁₀ UFC/g e não tiveram diferença estatística significativa, já a mistura dos dois, suco de limão mais vinagre, foi mais eficaz com redução de mais de 5 log₁₀ UFC/g. Concluíram que estes sanificantes naturais podem ser considerados agentes antimicrobianos, em potencial, para prevenir surtos de toxinfecção alimentar relacionados com vegetais frescos no ambiente doméstico. O peróxido do ácido acético, chamado de ácido peroxiacético ou peracético, é produzido pela reação do ácido acético com o peróxido de hidrogênio na presença de ácido sulfúrico, que tem a função de catalisador. É um composto instável e sofre perda de 1 a 2% dos ingredientes ativos por mês, na solução de 40%, e mais da metade em 6 dias na solução a 1% (NASCIMENTO et al., 2003a).

O ácido peracético é irritante à pele e mucosas, necessitando de cuidados para seu manuseio. Recomenda-se o manuseio do produto com roupas protetoras, luvas de PVC, máscara provida de filtro contra gases tóxicos e proteção ocular (ANDRADE & MACÊDO, 1996).

Apesar disso, este sanificante é atualmente um dos mais aplicados na indústria de alimentos, devido à alta eficiência no frio e a facilidade de inativação dos produtos de degradação, não oferecendo riscos de toxicidade para o alimento, nem afetando o sabor e o odor dos mesmos. No

Brasil, está aprovado para uso na indústria alimentícia, mas não para desinfecção de vegetais (NASCIMENTO et al., 2003c).

Em avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanificação da uva (vinagre, ácido peracético, ácido acético e compostos de cloro), os melhores resultados foram obtidos, utilizando-se ácido acético a 4%, que, para microrganismos aeróbios mesófilos, apresentou redução 0,22 log superior ao hipoclorito 200ppm e ao vinagre 6%. Também em relação aos bolores e leveduras, o ácido acético a 4% foi superior. Quanto a coliformes totais, devido à baixa contaminação inicial, todos os sanificantes testados apresentaram desempenho semelhante (NASCIMENTO et al., 2003c).

Na Espanha, também é utilizado como sanificante para desinfecção de vegetais, em restaurantes universitários, o permanganato de potássio e seu uso vêm sendo estimulado talvez, pelo fato, da cor rosa da solução evidenciar se o enxágüe foi realizado corretamente (SORIANO et al., 2000).

2.7 Análise de vegetais crus prontos para consumo

É importante ressaltar o perigo da contaminação cruzada em hortaliças higienizadas e sanitizadas prontas para consumo. Em trabalho realizado em cozinhas industriais, com análise microbiológica de utensílios e equipamentos, concluiu-se que vários destes tinham presença de microrganismos patogênicos (SILVA JR & MARTINS, 1991).

Em estudo realizado para avaliação da qualidade microbiológica de saladas cruas e saladas cozidas, servidas em 9 restaurantes industriais de

Belo Horizonte, em 1994, observou-se que 44% das saladas cruas apresentavam condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, haja visto estarem contaminadas com coliformes fecais. Deste percentual, 6,5% apresentavam nível de contaminação capaz de provocar toxinfecção alimentar (SIQUEIRA, 1997).

Em levantamento realizado em Niterói, no Rio de Janeiro, em amostras de alfaces processadas oriundas de restaurantes “self service” detectou-se presença de microrganismos e coliforme fecais acima do padrão preconizado pela legislação em 53,3% das mesmas (PAULA et al., 2003).

Estudo conduzido com a finalidade de verificar a qualidade higiênico-sanitária nas diferentes fases do preparo de alface utilizada no Restaurante Universitário da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, observou que 80% das alfaces recebidas estavam fora do padrão recomendado, assim como 60% das amostras higienizadas e 60% daquelas cortadas após a higienização. Não foi evidenciada a presença de *E. coli*, sendo as bactérias mais encontradas do gênero as *Serratia* e *Yersinia* (NETA et al., 2004).

Finalmente é possível afirmar que um produto adequado para consumo é aquele que atende às exigências do mercado consumidor, apresentando-se em conformidade com suas características originais, preservando sua coloração, sabor, aroma e textura, além da segurança desejada, representada pela inocuidade auferida pelos corretos passos adotados na sua cadeia de produção (MAISTRO, 2001).

2.8 Surto de doenças transmitidas por alimentos (DTA)

Os surtos de DTA são, na maioria das vezes, associados ao consumo de produtos de origem animal. Entretanto, surtos associados ao consumo de hortaliças e frutas têm acontecido. A *E. coli* 0157:H7 tem sido um dos microrganismos mais identificados em surtos envolvendo o consumo de alface. Outros patógenos identificados incluem *Salmonella Enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei*, vírus da Hepatite A e *Cyclospora cayetanensis* (CANADA, 2001).

Dos 122 surtos ocorridos em Minnesota, entre 1990 e 1996, 34 (30%) foram relacionados a frutas e vegetais. Em muitos destes surtos, a contaminação provavelmente ocorreu na cozinha, através da manipulação por indivíduos infectados ou através da contaminação cruzada com outros alimentos como o frango ou a carne bovina. Já que as frutas e verduras usualmente não são cozidas, são suscetíveis à contaminação em qualquer fase, da produção até o consumo (BENDER et al., 1999).

Um surto associado ao consumo de saladas contaminadas por *Campylobacter* sp. ocorreu na Austrália. A investigação de um grupo de 78 casos, associou o surto ao consumo de pepino em saladas, oferecidas em restaurante “self- service”. Em semanas subseqüentes, mais 6 pessoas que haviam almoçado em restaurantes também apresentaram gastroenterites depois de comer somente saladas. Os casos de infecção por *Campylobacter* sp. só cessaram quando mudanças foram instituídas no armazenamento e na

preparação de alimentos nas cozinhas dos restaurantes envolvidos nos surtos (KIRK et al., 1997).

Em novembro de 1995, 21 pessoas ligadas ao Peel Memorial Hospital na cidade de Brampton, no Canadá, apresentaram diarreia hemorrágica e dores abdominais. Das 19 pessoas que foram submetidas a exames laboratoriais, 15 foram positivas para *E. coli* 0157:H7. A investigação epidemiológica indicou a salada verde como provável fonte do surto, todos haviam ingerido refeições que continham alface americana, quer seja nos sanduíches ou nas saladas. A implicação da alface americana, um alimento usualmente não suspeito, como fonte de um surto, evidenciou que os vegetais servidos crus também poderiam ser veículos da *Escherichia coli* enterohemorrágica (CANADA, 1997).

Um outro surto, também envolvendo *E. coli* 0157:H7 ocorreu em junho de 1996, nos Estados de Connecticut e Illinois, associado ao consumo de alface. A investigação epidemiológica levou a um pequeno produtor de alface, que criava bovinos, espécie animal portadora potencial de *E. coli* 0157:H7, junto às hortas de alface. A *E. coli* 0157:H7 pode ser isolada da água que molhava e lavava a alface. Esse episódio alertou para o fato que as práticas de produção de alface podem contribuir para a sua contaminação com patógenos. A partir disto, torna-se fundamental que as práticas de produção de alface também sejam monitoradas em relação à segurança microbiológica (HILBORN et al., 1999).

Também em junho de 1996, um surto DTA causada pela *E. coli* 0157:H7 acometeu escolares na cidade de Sakai, no Japão. Este surto ocorreu em escolas fundamentais de dois bairros da cidade e todas as crianças foram hospitalizadas. Os cardápios dos almoços servidos nos sete dias anteriores ao sintomas foram investigados, sendo o broto de radite o único alimento servido cru em ambas as escolas. Em áreas vizinhas, também foram relatados mais dois casos de infecção por *E. coli* 0157:H7 também associados aos brotos de radite. Em todos os surtos investigados os brotos de radite foram produzidos na mesma horta. A hipótese levantada foi que os brotos germinados haviam sido contaminados por *E. coli* 0157:H7 a partir da água ou da superfície da semente (MICHINO et al., 1999).

Como referido anteriormente, a infecção por outros microrganismos também tem sido associada ao consumo de saladas. Um surto de gastroenterite aguda, envolvendo 159 soldados na base de treinamento da Força de Defesa de Israel, em dezembro de 1999, foi causado pelo Norovirus (NV) e associado ao consumo de vegetais frescos (GROTTO et al., 2004).

Recentemente, produtos frescos foram identificados como fonte de um surto de infecção humana por *Yersinia pseudotuberculosis*. Os 38 pacientes, com infecção confirmada, haviam ingerido, nas últimas duas semanas, alface americana em quatro cafeterias da Finlândia. A alface americana servida nestas cafeterias, por sua vez, havia sido fornecida por quatro produtores. Ao investigar as condições encontradas nos locais de produção, a *Y. pseudotuberculosis* foi isolada a partir do solo, da água de

irrigação e das amostras de alface de uma das hortas. A origem suspeitada para a contaminação foi a presença de fezes de veados montanheses que, aparentemente, tinham acesso ao local onde as alfaces foram plantadas. Esses animais, por sua vez, haviam sido identificados, anteriormente, como portadores de *Y. pseudotuberculosis* (NOURTI et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido em duas etapas. Na primeira realizou-se um estudo observacional, onde aplicaram-se questionários com a finalidade de conhecer algumas características de restaurantes comerciais de dois bairros de Porto Alegre, principalmente no que dizia respeito à forma como eram higienizadas as hortaliças servidas aos seus clientes. Na segunda etapa, os protocolos de lavagem e higienização mais utilizados pelos estabelecimentos foram testados quanto à capacidade de redução de populações de bactérias mesófilas aeróbias e coliformes presentes em alfaces comercializadas em Porto Alegre.

3.1 Coleta de dados por questionários

O questionário (Apêndice 1) foi aplicado em restaurantes comerciais, que serviam bufê no almoço, localizados nos bairros Centro e Moinhos de Vento, na cidade de Porto Alegre. A escolha dos bairros foi intencional por concentrarem um número expressivo de indivíduos que almoçam em restaurantes e por representarem duas realidades diferentes de freqüentadores e de estabelecimentos. No Centro estão concentrados escritório, bancos e casas de comércio popular. Como em todas os grandes centros urbanos, a área central vem sofrendo desvalorizações imobiliárias, resultando na migração das atividades comerciais de maior porte, inclusive na

área de alimentação, para outros bairros da cidade. Nesse sentido, o bairro Moinhos de Vento representa essa transição entre uma área residencial tradicional da cidade e uma região comercial emergente, contando com escritórios de grandes empresas, hotéis, consultórios médicos e lojas de artigos de luxo.

Os questionários foram aplicados nos meses de julho e agosto de 2004, em restaurantes cadastrados na Secretaria Municipal da Indústria e Comércio (SMIC).

O número de questionários aplicados foi calculado considerando uma prevalência esperada de 50%, uma população de 303 restaurantes e um erro de 10%. A partir disso, estabeleceu-se que seriam realizadas entrevistas em pelo menos 20% dos restaurantes pertencentes a cada estrato (Centro e Moinhos de Vento).

O questionário incluiu perguntas gerais a respeito do estabelecimento (número de refeições servidas, custo de cada refeição, etc.) e perguntas específicas a respeito dos protocolos de lavagem e manipulação das hortaliças servidas cruas no bufê.

Foram conduzidas entrevistas em 10 restaurantes no bairro Moinhos de Vento, representando 28,5% dos 35 cadastrados; e em 62 restaurantes localizados no Centro, representando 25,7% dos 241 cadastrados, totalizando 72 visitas. A escolha dos restaurantes foi aleatória, através de sorteio, entre os restaurantes cadastrados pela SMIC.

3.2 Teste dos protocolos de lavagem de alface adotados nos restaurantes comerciais do Centro e Moinhos de Vento

Este experimento foi realizado nos meses de janeiro e fevereiro de 2005 no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Veterinária da UFRGS.

Foi escolhida a alface crespa como matriz, onde os protocolos seriam testados, por ter sido a mais servida nos restaurantes visitados.

As amostras de alface crespa foram adquiridas em oito diferentes fornecedores de Porto Alegre, sendo acondicionadas em embalagens estéreis, e transportadas até o Laboratório em temperatura ambiente e processadas em seguida.

Em cada ocasião foram adquiridas cinco unidades de alface crespa, que foram misturadas e, posteriormente, divididas em porções de 100g para serem submetidas aos os seguintes tratamentos:

T₀ – controle; alface sem tratamento;

T₁ – lavada com água tratada corrente;

T₂ – lavada com água tratada corrente e imersa em água tratada por 30 minutos;

T₃ – lavada com água tratada corrente e imersa em solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, com cloro ativo de 200 ppm, por 15 minutos;

T₄ – lavada com água tratada corrente e imersa em solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, com cloro ativo de 200 ppm, por 30 minutos;

T₅ – lavada com água tratada corrente e imersa em solução de vinagre a 2% por 15 minutos;

T₆ – lavada com água tratada corrente e imersa em solução de vinagre a 20% por 15 minutos.

Nos tratamentos T₂ a T₆, as folhas de alface foram novamente enxaguadas com água corrente após terem sido submetidas aos tratamentos, e antes de serem realizadas as análises microbiológicas.

Todos os tratamentos foram conduzidos em dez repetições em dias diferentes.

Como fonte de hipoclorito de sódio foi utilizada água sanitária da marca Q. Boa[®], por ser uma das mais utilizadas, conforme relato feito pelos proprietários dos restaurantes entrevistados. A unidade utilizada do produto foi remetida para análise no Laboratório de Análises Químicas Pró Ambiente, que atestou que o produto continha 2,5% de Cloro Ativo (Apêndice 2).

O vinagre utilizado era produto comercial identificado como vinagre branco (fermentado acético de vinho branco e álcool - Agrin) da marca Prinz[®].

A água utilizada na lavagem e nos tratamentos era tratada pelo Departamento Municipal de Águas e Esgoto (DMAE), captada direto da rede, sem passar por caixa d'água. Amostras da água colhidas da mesma torneira, onde coletava-se água para o experimento, foram submetidas à análise microbiológica, sendo considerada potável nas cinco análises realizadas.

3.2.1 Preparação das diluições do material analisado

De cada tratamento foram pesadas 25g das amostras e acrescidas a 225 mL de NaCl 0,85% (10^{-1}) e homogeneizadas em “stomacher” por 30 segundos (2 vezes). Alíquotas de 1 mL foram diluídas, seriadamente, em 9 mL de NaCl 0,85% até 10^{-7} para o T_0 e até 10^{-4} para os demais tratamentos.

3.2.2 Contagem de mesófilos aeróbios totais

De cada diluição, conforme cada tratamento, foi depositado 1 mL em placas de Petri estéreis, sempre em duplicata. A essas placas foram adicionados 15 mL de Agar Padrão para Contagem (PCA, marca Merck[®]), sendo a mistura homogeneizada. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Foram selecionadas as placas que apresentavam entre 25 a 250 colônias, a contagem foi determinada, multiplicando o número de colônias, pelo inverso da diluição e expresso em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/g) de alface (SILVA et al., 1997).

3.2.3 Contagem de coliformes totais

Alíquotas (1mL) das diluições, conforme cada tratamento, foram depositadas em placas de Petri estéreis, sempre em duplicata. A essas placas foram adicionados 15 mL de Agar Vermelho Violeta Bile (VRB, marca Oxoid[®]), sendo a mistura homogeneizada. Após solidificação do meio foi acrescida uma sobrecamada de 5mL de VRB. As placas foram incubadas a 37° por 24/48 horas.

Após o período de incubação, foram selecionadas as placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias, sendo contadas apenas as colônias características de coliformes totais (vermelho púrpura com 0,5 mm ou mais de diâmetro, rodeados por halo avermelhado de precipitação de sais biliares). A contagem foi determinada multiplicando o número de colônias típicas pelo inverso da diluição, sendo o resultado expresso em UFC/g de alface (SILVA et al., 1997).

3.2.4 Contagem de coliformes termo-tolerantes

Das placas com colônias características de coliformes totais foram selecionadas cinco colônias típicas e transferidas individualmente para tubos contendo caldo EC (Merck[®]), que foram incubados em banho-maria a 44,5°C por 48 horas, tubos com crescimento e presença de gás foram confirmados para coliformes termo-tolerantes.

Foi calculado o número de UFC/g em função do número de colônias típicas contadas, diluição inoculada e percentagem de colônias confirmadas (SILVA et al., 1997).

6.2.4 Cálculo da redução da contagem de coliformes e mesófilos totais

Em cada repetição, para cada tratamento (T₁ até T₆) foram aplicadas as seguintes fórmulas:

$R_{CT} = (\text{UFC/g confirmada para CT no } T_0) - (\text{UFC/g confirmada para CT no } T_n)$ onde n é 1 até 6 e R_{CT} = redução de coliformes totais.

$R_M = (\text{UFC/g mesófilos } T_0) - (\text{UFC/g mesófilos } T_n,)$ onde n é 1 até 6 e R_M = redução de mesófilos.

3.3 Análise estatística

As respostas dos questionários foram analisadas estatisticamente pelo teste do qui-quadrado, teste exato de Tukey ou pelo teste de Mann-Whitney.

Às reduções obtidas nos Tratamentos, foi aplicada a análise de variância seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey.

Em todos os testes adotou-se um nível de significância $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Entrevista nos restaurantes

Dos restaurantes sorteados, 8 estabelecimentos no bairro Moinhos de Vento e 48 no Centro haviam mudado de endereço. Apenas 2 estabelecimentos no bairro Moinhos de Vento não quiseram responder ao questionário. Cinco estabelecimentos no Centro não serviam bufe no almoço. Esses estabelecimentos foram substituídos por outros igualmente sorteados da lista fornecida pela SMIC, a fim de completar o número de amostras previstas para o estudo. Dez restaurantes nos dois bairros marcaram a entrevista para outro dia, totalizando 140 visitas realizadas.

Os dois bairros, Moinhos de Vento e Centro, onde foram aplicados os questionários, não diferiram estatisticamente ($P=0,727$) em relação ao número de refeições servidas por restaurante, sendo que 49% dos estabelecimentos entrevistados serviam entre 51 a 200 almoços.

TABELA 1: Distribuição dos restaurantes em dois bairros de Porto Alegre (Centro e Moinhos de Vento) de acordo com o número diário de refeições servidas.

Número de Refeições	BAIRROS				TOTAL	
	Centro		Moinhos de Vento		n	%
	n	%	n	%		
até 50	6	10	0	0	6	8
51 -100	20	32	5	50	25	35
101 - 200	21	34	3	30	24	34
201 - 300	6	10	2	20	8	11
mais 300	9	14	0	0	9	12
Total	62	100	10	100	72	100

No preço por refeição, houve diferença estatística significativa ($P < 0,01$), entre os restaurantes dos dois bairros. No bairro Moinhos de Vento, 70% dos restaurantes cobravam pelos seus almoços entre R\$ 11,00 e R\$ 15,00; já no Centro, o percentual maior (60%) ficou na faixa entre R\$ 5,10 a R\$ 10,00 (FIGURA 1). Essa diferença era esperada, uma vez que o tipo de público atendido nos dois bairros apresenta perfil socioeconômico distinto, o que se reflete, no valor dos vales refeição, no caso de trabalhadores, e no recurso disponível para a despesa com alimentação. Essa diferença esperada motivou a escolha dos dois bairros para a condução do presente estudo, uma vez que também objetivou-se avaliar se o custo da refeição e o tipo de público freqüentador influenciava na forma de preparo das saladas verdes.

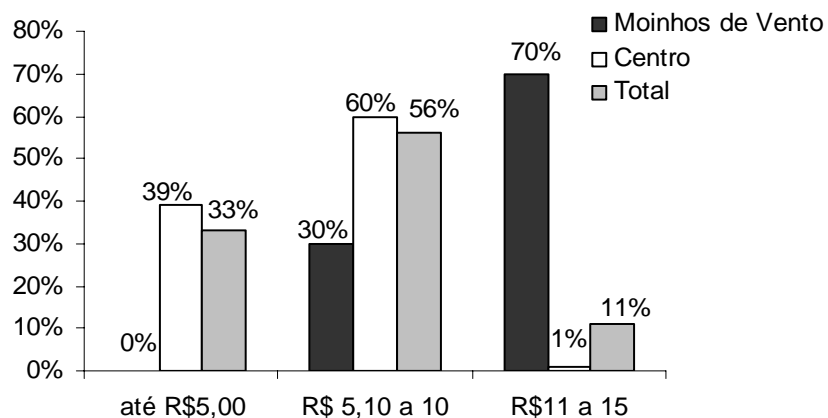


FIGURA 1 – Distribuição dos restaurantes visitados nos Bairros Moinhos de Vento e Centro, quanto ao preço cobrado pelo almoço.

Quanto ao tipo de sanificante utilizado para a higienização da alface, não houve diferença estatística entre os bairros ($P=0,302$). Os sanificantes mais utilizados foram o vinagre e a água sanitária, que juntos representavam 55% dos tratamentos utilizados nos restaurantes visitados. Ao lado disso, 39% dos restaurantes utilizavam apenas água e nenhum dos restaurantes lavava com mais de um sanificante (FIGURA 2).

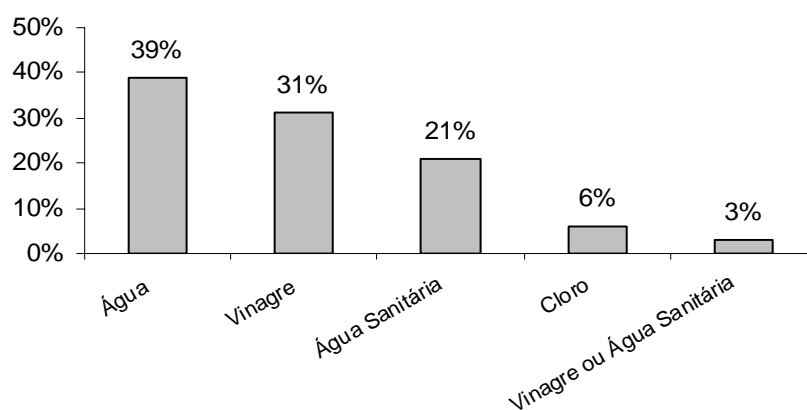


FIGURA 2 – Distribuição dos estabelecimentos de acordo com o tipo de tratamento adotado para sanificação das alfaces servidas no bufê.

Singh et al. (2002) concluíram que um só tratamento, lavagem com água ou somente um sanificante, não é efetiva para eliminação de patógenos e que a lavagem seqüencial é um importante componente na eliminação de microrganismos.

Cabe ressaltar que 88% dos restaurantes visitados não utilizavam o sanificante adotado numa concentração previamente definida. Aqueles que obedeciam uma concentração estabelecida não tinham medidores para diluição, o que pode influenciar na eficácia dos tratamentos.

Desta forma, a concentração de sanificantes utilizada foi difícil de dimensionar, principalmente em relação ao vinagre, pois muitas vezes a resposta foi “algumas gotas”. Em todos esses casos, supõem-se que uma solução excessivamente diluída tenha sido utilizada.

O tempo também foi difícil de precisar a partir das respostas dos questionários, pois muitos declararam deixar “um pouco”, enquanto outros, afirmaram deixar as hortaliças imersas na solução de sanificante, enquanto faziam outras atividades.

Os motivos que levaram os proprietários entrevistados a adotar o protocolo de higienização de alface descrito no questionário diferiu estatisticamente ($P=0,044$). No Centro, 23% dos que responderam, justificaram que foi a indicação da Vigilância Sanitária, enquanto 39% o fizeram por outros motivos, (televisão, indicação de alguém ou experiência prévia em outro estabelecimento). No Bairro Moinhos de Vento, a indicação da Vigilância Sanitária não foi citada, sendo somente os outros motivos referidos.

Nos itens do questionário referentes à produção e distribuição das saladas, não houve diferença estatística ($P>0,05$) nas respostas encontradas nos dois bairros amostrados (TABELA 2).

A maioria dos restaurantes tem utensílios exclusivos para lavagem e sanificação das saladas, assim como para a distribuição das mesmas para os clientes.

Em 87% dos restaurantes, a higienização das alfaces foi feita pelo mesmo funcionário (TABELA 2). A permanência do mesmo funcionário na função de higienizar as alfaces é desejável, uma vez que facilita os treinamentos, a adoção medidas de higiene pessoal, dos alimentos e dos utensílios, rastreabilidade das não conformidades, assim como a implementação de medidas corretivas.

TABELA 2: Respostas obtidas para itens relacionados à produção e distribuição de saladas em questionários aplicados em restaurantes de dois bairros, de Porto Alegre, 2004.

Item do questionário	Sim (%)	Não (%)
Utensílios exclusivos para higienização de saladas	71	29
Utensílios exclusivos para distribuição de saladas	70	30
Área própria para higienização	63	36
Sempre o mesmo funcionário que higieniza	87	13
Salada para reposição fica refrigerada	78	22
Salada no balcão de distribuição fica refrigerada	75	25

Segundo a legislação, RDC nº 216, (BRASIL, 2004), durante a preparação dos alimentos devem ser adotadas medidas a fim de minimizar o risco de contaminação cruzada. Entre elas deve-se evitar o contato, direto ou indireto, entre alimentos crus, semi-preparados e prontos para consumo. Neste sentido ter utensílios e área exclusivos para o preparo das saladas é uma medida que minimiza a contaminação cruzada das mesmas durante o preparo.

A maioria dos restaurantes colocava sob refrigeração as saladas, tanto para reposição como durante a distribuição de refeições; muitos possuíam balcões térmicos para cadeia quente e fria. Entretanto, 25% do total de restaurantes não possuíam balcão de refrigeração. Esses restaurantes, em sua maioria, eram de menor porte, não tendo espaço suficiente para os dois balcões.

A temperatura é um fator de importância na preservação de hortaliças, o qual interfere, principalmente, em dois fatores: na multiplicação dos microrganismos mesófilos e na respiração dos vegetais. Na respiração, há queima de O_2 e liberação do CO_2 pela degradação de carboidratos e aminoácidos livres nos tecidos, que são as únicas fontes de energia após a colheita. A respiração é regulada pela ação de enzimas específicas, que são sensíveis à temperatura e aumentam suas atividades de duas a quatro vezes para cada aumento de $10^\circ C$ de temperatura (CHITARRA, 1990). Sob refrigeração, tanto a multiplicação microbiana como a respiração acontecem lentamente propiciando uma maior durabilidade das saladas (ROSA &

CARVALHO, 2000; KINTON et al., 1999). A temperatura recomendada para o armazenamento de hortaliças folhosas é de 10°C (SILVA JR, 2002).

A alface crespa foi a mais servida nos restaurantes visitados (TABELA 3). Essa preferência pode estar relacionada ao fato da alface crespa prestar-se melhor à decoração de pratos e ter maior durabilidade, quando comparada à alface lisa. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os bairros, quanto ao uso da alface crespa em relação aos outros tipos de alface.

TABELA 3: Distribuição percentual dos restaurantes visitados em dois bairros de Porto Alegre quanto ao tipo de alface oferecida no bufê.

Tipo de alface servida	Centro (%)	Moinhos de Vento (%)	Total (%)
Somente crespa	58	20	52
Somente lisa	10	0	9
Crespa e lisa	14	20	14
Aquela de preço melhor	8	10	9
Vários tipos	10	50	16

Entretanto, no bairro Moinhos de Vento observou-se que 50% dos restaurantes serviam vários tipos de saladas verdes, dando uma maior variedade de opções para seus clientes, o que pode estar associado ao fator preço por refeição, que neste bairro foi mais elevado.

Quanto ao uso de touca, não houve diferença estatística entre os dois bairros. Nos restaurantes do bairro Moinhos de Vento, todos os manipuladores de alimentos (100%) usavam touca, no Centro, em quatro restaurantes (7%) verificou-se a falta de uso de touca. Esses estabelecimentos

não estavam em conformidade com a legislação que dispõe sobre regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Serviços de Alimentação, segundo o qual os manipuladores devem usar cabelos presos e protegidos por redes, toucas ou outro acessório apropriado para este fim (BRASIL, 2004).

Essa exigência está relacionada ao fato que os cabelos e a cabeça são menos tocados pelas mãos, se uma touca ou boné forem usados, e a queda de cabelos sobre os alimentos será prevenida. O cabelo e a pele por sua vez, têm uma microbiota residente elevada e que pode ser carregada ao alimento pelas mãos e por fios de cabelo que caem nos mesmos (HOOBS & ROBERTS, 1999).

Poucos estabelecimentos visitados (11%) responderam que eram utilizadas luvas durante o preparo das saladas.

Segundo Silva Jr (2002), em estudos realizados em cozinhas industriais, a higienização das mãos com sabão e a anti-sepsia com álcool iodado a 0,1%, foi o método mais eficaz. As luvas descartáveis, por outro lado, não contribuíram para diminuir a contaminação dos alimentos manipulados. A partir disso, os autores sugeriram o uso de luvas só para refeições transportadas e para manipulações rápidas.

O alto número de restaurantes que não orientam o uso de luvas pelos funcionários, não é significativo em relação à contaminação das saladas, desde que os manipuladores estejam orientados, segundo a legislação (SÃO PAULO, 1999), a lavar as mãos nas seguintes situações:

— na chegada ao trabalho;

- após a utilização do sanitário;
- após tossir, espirrar ou assoar o nariz;
- após usar esfregões, panos ou materiais de limpeza;
- após fumar;
- após recolher o lixo;
- após tocar em sacarias, caixas, garrafas, sapatos, dinheiro, alimentos não higienizados ou crus;
- na interrupção do serviço e ao iniciar um novo serviço;
- antes de tocar em utensílios higienizados e de colocar luvas.

Nos itens relacionados à existência de treinamento e orientação técnica nos restaurantes, não houve diferença significativa ($P>0,05$) nas respostas obtidas (TABELA 4) nos dois bairros da cidade, apesar da diferença observada no preço cobrado pela refeição.

Dos 15% dos restaurantes que haviam tido algum tipo de treinamento, a palestra obrigatória, ministrada pela Equipe de Vigilância de Alimentos da Secretaria Municipal da Saúde ao proprietário ou responsável antes da abertura de seu estabelecimento, foi a mais citada. Ao lado disso, foram citados alguns treinamentos oferecidos pelo Sindicato de Estabelecimentos de Alimentação.

TABELA 4: Distribuição percentual dos restaurantes visitados quanto à existência de treinamento, manual de boas práticas e responsável técnico.

	Sim (%)	Não (%)	Quando necessário (%)
Treinamento	15	85	
Manual de Boas Práticas	4	96	
Orientação de nutricionista	1	95	4
Assessoria técnica	0	100	

Os manipuladores de alimentos devem ser supervisionados e capacitados, periodicamente, no que se refere à higiene pessoal, manipulação higiênica dos alimentos e doenças transmitidas por alimentos. Segundo a legislação, a capacitação deve ser comprovada mediante documentação (BRASIL, 2004).

Estes treinamentos para manipuladores, próprios dos restaurantes, inexistia em todos os estabelecimentos visitados. Entretanto, é importante salientar que, no período da realização dos questionários, a legislação referida não estava ainda vigente.

A ausência de treinamento torna difícil o cumprimento das normas de higiene, por parte dos manipuladores, como a lavagem e anti-sepsia das mãos, adoção de medidas preventivas que minimizem o risco de contaminação cruzada, armazenamento correto de matéria-prima e do produto pronto para consumo.

A legislação citada é de setembro de 2004, e entrou em vigor a partir de 15 de março de 2005. Tem como objetivo estabelecer procedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação a fim de garantir as condições higiênico sanitárias do alimento preparado. O Manual de Boas Práticas é um documento que descreve as operações realizadas pelo estabelecimento, incluindo, no mínimo, os requisitos higiênico sanitários das edificações, a manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle da água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas urbanas, a capacitação profissional, o controle da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo de resíduos e o controle e garantia de qualidade do alimento preparado (BRASIL, 2004).

O Manual de Boas Práticas, também exigido por esta legislação, aplica-se a todos os serviços de alimentação tais como cantinas, bufês, comissárias, confeitarias, cozinhas industriais, lanchonetes, padarias, pastelarias, restaurantes, rotisseries e congêneres (BRASIL, 2004). Essa legislação não era do conhecimento dos responsáveis pelos estabelecimentos visitados, sendo que muitos deles não sabiam o que era o Manual de Boas Práticas.

A assessoria técnica, assim como a contratação de nutricionista não é obrigatória em restaurantes comerciais, portanto a maioria não tinha profissional contratado.

A partir das informações obtidas nos questionários, observou-se que os restaurantes localizados nos dois bairros de Porto Alegre diferiram

estatisticamente ($P < 0,05$) no preço cobrado pela refeição e na variedade de saladas oferecidas. Porém em todos os itens relacionados à manipulação e higienização das saladas os restaurantes dos dois bairros apresentavam um perfil semelhante, indicando que o maior investimento dos estabelecimentos não está relacionado com a capacitação dos funcionários, assessoria técnica ou aperfeiçoamento dos protocolos de sanitização.

4.2 Comparação dos protocolos de higienização de alface utilizados nos restaurantes visitados

As informações obtidas por meio do questionário, aplicado na primeira etapa do estudo, demonstraram que a maioria dos restaurantes visitados não seguia uma concentração previamente definida do sanificante empregado. Da mesma forma, os tempos de exposição aos produtos eram definidos de forma pouco precisa.

A partir disso, estimou-se um volume e um tempo de exposição que fossem aproximados àqueles citados pela maioria dos entrevistados. Cabe ressaltar que o volume mais freqüentemente citado (“algumas gotas”), considerando o volume de água necessário para a imersão das alfaces, não era suficiente para resultar em algum efeito sanificante. Dessa forma, o tratamento imersão em água (T_2) representou o mais utilizado pelos estabelecimentos visitados. Assim, foi estabelecida a concentração 2% e 20% para o vinagre, enquanto para a água sanitária utilizou-se uma concentração (200ppm de hipoclorito de sódio) indicada na literatura (ARRUDA,1996; SÃO

PAULO,1999; SILVA JR, 2002), com imersão em tempos aproximados aos informados pelos questionários.

Comparando as médias e medianas de populações de mesófilos aeróbios e coliformes totais obtidas após os protocolos de higienização, observa-se que as mesmas tiveram valores semelhantes, indicando que não houve grande variabilidade entre as contagens encontradas nas dez repetições realizadas para os tratamentos (TABELA 5, Apêndice 3).

Após todos os tratamentos, houve um decréscimo nas contagens verificadas, tanto para mesófilos aeróbios como para coliformes totais, em relação à população inicial das amostras de alface analisadas.

TABELA 5: Número médio e mediano de mesófilos aeróbios e coliformes totais, encontrados em amostras de alface crespa, submetidas a diferentes tratamentos.

	Mesófilos Aeróbios		Coliformes Totais	
	Média	Mediana	Média	Mediana
	UFC*/g	UFC*/g	UFC*/g	UFC*/g
Sem tratamento	$1,60 \times 10^6$	$1,90 \times 10^6$	$1,21 \times 10^5$	$9,00 \times 10^4$
Lavagem com água	$3,42 \times 10^5$	$5,50 \times 10^5$	$9,40 \times 10^3$	$6,50 \times 10^3$
Imersão Água (30 min)	$2,87 \times 10^5$	$2,55 \times 10^5$	$9,78 \times 10^3$	$1,15 \times 10^4$
Imersão Vinagre 2% (15 min)	$3,35 \times 10^4$	$3,95 \times 10^4$	$2,92 \times 10^3$	$1,75 \times 10^3$
Imersão Vinagre 20% (15 min)	$3,08 \times 10^4$	$3,05 \times 10^4$	$9,81 \times 10^2$	$7,00 \times 10^2$
Imersão Hipoclorito de Sódio (15 min)	$1,40 \times 10^4$	$1,50 \times 10^4$	$6,10 \times 10^2$	$7,40 \times 10^2$
Imersão Hipoclorito de Sódio (30 min)	$5,50 \times 10^3$	$5,60 \times 10^3$	$5,43 \times 10^2$	$3,75 \times 10^2$

* UFC – Unidades formadoras de colônias

As amostras de alface adquiridas no comércio de Porto Alegre apresentaram contagens médias de mesófilos aeróbios que variaram de $5,4 \times 10^5$ UFC/g a $5,6 \times 10^6$ UFC/g resultando numa média de $1,6 \times 10^6$ UFC/g (TABELA 5).

As contagens encontradas para coliformes totais nessas mesmas amostras variaram de $1,1 \times 10^4$ UFC/g até $1,4 \times 10^6$ UFC/g. Em três amostras foram confirmados coliformes termo-tolerantes ($2,8 \times 10^4$, $1,8 \times 10^4$ e $1,3 \times 10^4$ UFC/g).

Nas três amostras que apresentavam coliformes termo-tolerantes, observou-se que em duas, os tratamentos com vinagre e com hipoclorito de sódio não garantiram que fossem atingidos os níveis exigidos pela legislação (BRASIL, 2001) para hortaliças prontas para consumo.

As contagens iniciais (T_0) observadas ficaram abaixo das encontradas, por exemplo, em amostras de alface adquiridas de vários fornecedores, da área metropolitana de Washington D.C., onde a média de quantificação de mesófilos aeróbios foi de $8,60 \log_{10}$ UFC/g ($3,98 \times 10^8$ UFC/g), tendo sido o segundo maior valor encontrado em comparação com os outros vegetais avaliados no estudo (THUNBERG et al., 2002).

Por outro lado, Smith et al. (2003) encontraram em amostras de alface sem tratamento contagens até $5,14 \log_{10}$ UFC/g ($1,38 \times 10^5$ UFC/g) de mesófilos aeróbios. Após lavagem com água, em 88% restaram contagens superiores a $2 \log_{10}$ UFC/g (1×10^2 UFC/g) de mesófilos aeróbios, alcançando uma redução superior às verificadas no presente estudo.

As reduções (\log_{10}) obtidas após os diferentes tratamentos (TABELA 6) foram, na maioria das vezes, superiores para coliformes totais em relação aos mesófilos aeróbios.

TABELA 6: Média (\log_{10} UFC/g) e redução (\log_{10}) de mesófilos aeróbios e coliformes totais em amostras de alface crespa submetidas a diferentes tratamentos.

Tratamentos	Mesófilos Aeróbios		Coliformes Totais	
	Médias \log_{10} UFC**/g	Redução \log^{10}	Médias \log_{10} UFC**/g	Redução \log^{10}
Sem tratamento	6,20 ^a		5,08 ^a	
Lavagem com água	5,53 ^a	0,67	3,99 ^b	1,11
Água (30 min)	5,46 ^a	0,75	3,97 ^b	1,09
Vinagre 2% (15min)	4,52 ^b	1,68	3,46 ^{bc}	1,62
Vinagre 20% (15 min)	4,49 ^b	1,72	2,99 ^c	2,09
Hipoclorito de sódio (15 min)	4,15 ^b	2,06	2,79 ^c	2,29
Hipoclorito de sódio (30 min)	3,74 ^b	2,46	2,73 ^c	2,35

* Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem significativamente ($P>0,05$).

** UFC: unidades formadoras de colônias

A maior redução, tanto para população de mesófilos aeróbios como para coliformes totais, ocorreu no tratamento com hipoclorito de sódio a 200ppm por 30 minutos, com redução de 2,46 \log_{10} UFC/g e 2,35 \log_{10} UFC/g, respectivamente. Por outro lado, as menores reduções na população de mesófilos aeróbios (0,67 \log_{10} UFC/g) e na população de coliformes totais (1,09 \log_{10} UFC/g) foram encontradas nos tratamentos que usaram apenas água. As contagens médias de mesófilos aeróbios obtidas para esses tratamentos não diferiram estatisticamente ($P>0,05$) das contagens encontradas nas amostras

sem tratamento (T_0). Já em relação aos coliformes totais, houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre os valores do T_0 e dos tratamentos que utilizavam apenas água.

Soriano et al. (2000) evidenciaram que não houve redução significativa na população de mesófilos aeróbios ou coliformes totais, entre amostras de alface não lavada e lavada com água destilada. Já o uso de soluções de hipoclorito de sódio ou permanganato de potássio ocasionou uma redução maior que 2 log, para microrganismos aeróbios nesse estudo.

Segundo Mossel (1982), a contagem de mesófilos aeróbios máxima aceitável em vegetais é de $5,0 \log_{10}$ UFC/g. Ficando, assim, os tratamentos com água na população de mesófilos aeróbios fora desse padrão.

Cabe lembrar, que 39% dos restaurantes comerciais visitados lavavam as alfaces só com água, enquanto a maioria, como salientado anteriormente, deixavam as alfaces em imersão com quantidades de sanificantes insuficientes, o que pode comprometer a eficiência do sanificante e a qualidade microbiológica das hortaliças servidas nos restaurantes.

O limite de $5,0 \log_{10}$ UFC/g foi igualmente excedido por 50% das amostras de alface dos experimentos de Ruiz et al. (1987). Esses autores encontraram uma maior população de mesófilos aeróbios em alfaces amostradas no verão ($2,8 \times 10^7$), em comparação com aquelas analisadas no inverno ($1,6 \times 10^5$), provavelmente pelo uso de água de irrigação contaminada, assim como, pelas altas temperaturas que podem ter favorecido o crescimento bacteriano.

Paula et al. (2003), em amostras de alface coletadas em diferentes restaurantes “self service” da cidade de Niterói (RJ), evidenciaram a presença de mesófilos aeróbios igual ou superior 10^7 UFC/g em 16 (53%) das 30 amostras coletadas. Uma contagem bastante elevada, considerando que as amostras analisadas estavam prontas para consumo e fora do padrão estabelecido por Mossel (1982).

Na população de coliformes totais, nos dois tratamentos com água, houve uma redução de $1 \log_{10}$ UFC/g (TABELA 6). Esse resultado difere daqueles evidenciados por Berbari et al. (2001), que encontraram 10^5 UFC/g de coliformes totais, em alfaces sem tratamento e, após lavagem com água, uma redução inicial de 2 ciclos logarítmicos nas contagens desse grupo bacteriano.

Não houve diferença significativa entre as populações médias encontradas após os quatro tratamentos que utilizavam sanificantes, tanto para mesófilos aeróbios como para coliformes totais.

Os tratamentos com hipoclorito de sódio resultaram na redução de $2 \log_{10}$, tanto para mesófilos aeróbios como para coliformes totais, estando de acordo com Allende et al. (2004) que demonstraram que a higienização com cloro é capaz de reduzir pelo menos $2 \log_{10}$ UFC/g. Entretanto, os autores ressaltaram que esta redução só pode ser considerada suficiente, quando a quantificação inicial de microrganismos não estiver excessivamente alta.

As populações encontradas após os tratamentos com vinagre a 20% foram significativamente diferentes daquelas após os tratamentos apenas com água, para os dois grupos de microrganismos. Já o tratamento com

vinagre a 2% ficou numa posição intermediária em relação aos coliformes totais, com contagens semelhantes tanto às observadas após os tratamentos apenas com água, como às obtidas no grupo de tratamentos com sanificantes.

Comparando-se os resultados do presente estudo para mesófilos aeróbios com os obtidos por Nascimento et al. (2003b), é possível observar que foram bastante similares (TABELA 7), apesar das concentrações utilizadas para o vinagre diferirem. No presente estudo, foram usadas concentrações de 2% (menor concentração) e 20% (maior concentração), enquanto no trabalho de Nascimento (2003b) as concentrações utilizadas foram de 6% e 25%.

TABELA 7: Média de mesófilos aeróbios e coliformes totais após tratamento de amostras de alface com sanificantes e a redução em relação à contagem inicial, obtidas no presente estudo em comparação com as encontradas por Nascimento et al. (2003b).

	Mesófilos Aeróbios				Coliformes Totais			
	Presente estudo		Nascimento et al. (2003b)		Presente estudo		Nascimento et al. (2003b)	
	Média log ₁₀	Redução log ₁₀	Média log ₁₀	Redução log ₁₀	Média log ₁₀	Redução log ₁₀	Média log ₁₀	Redução log ₁₀
Sem tratamento	6,20		6,94		5,08		3,25	
Água	5,53	0,67	6,16	0,78	3,97	1,11	2,43	0,82
Hipoclorito de Na*	4,15	2,06	4,31	2,63	2,78	2,29	1,34	1,91
Vinagre menor concentração*	4,52	1,68	5,11	1,83	3,46	1,62	1,67	1,58
Vinagre maior concentração*	4,49	2,46	4,52	2,42	2,09	2,99	1,26	1,99

* Tempo de exposição = 15 minutos

A maior diferença entre os resultados dos dois estudos ocorreu no tratamento com hipoclorito de sódio, onde no estudo de Nascimento et al. (2003b) houve uma maior redução na contagem de mesófilos aeróbios, enquanto no presente estudo houve maior redução nos coliformes totais.

Entretanto, a comparação do efeito dos tratamentos na população de coliformes totais demonstrou uma semelhança em relação às reduções obtidas nos dois trabalhos. A diferença observada na população final após os tratamentos, que no atual estudo esteve mais elevada, está provavelmente relacionada com as contagens iniciais observadas no presente estudo, as quais foram superiores às encontradas por Nascimento et al. (2003b).

Lopez et al. (2003) para avaliar a sanificação de vegetais pré-processados, aplicaram teste Chambers recomendado pelo Food and Drug Administration que considera um bom sanificante, o produto que, na concentração recomendada pelo fabricante reduz 99,999% (redução de 5 logaritmos) em uma quantidade entre $7,5 \times 10^7$ a $1,3 \times 10^8$ células/ml em 30 segundos.

Esses autores constataram uma eficácia de 97,52% para o extrato de sementes de pomelo (400ppm) e 99,50% para o ácido peracético (2000ppm), no tempo de 10 minutos na redução da população de mesófilos aeróbios aplicados em alface, após lavar com água corrente por 30 segundos e higienizar com os sanificante citados (LOPEZ et al. 2001).

Em relação à população inicial das amostras de alface no presente estudo, os dois tratamentos com hipoclorito de sódio foram os mais

eficazes, alcançando 99% de redução nas duas populações microbianas quantificadas.

Segundo Leitão (1981), quando se pesquisa eficiência de um agente sanificante em indústria de alimentos, deve-se considerar também que a redução observada nas contagens microbianas, não é relacionada exclusivamente à atividade do agente sanificante, uma vez que o efeito final pode também estar associado a uma remoção mecânica das células durante a lavagem inicial.

TABELA 8: Percentual de redução de cada tratamento em relação ao T₁ (lavagem com água) em ordem crescente de eficácia

Eficácia em relação água	Mesófilos aeróbios	Coliformes totais
Vinagre 2%	90,22	68,99
Vinagre 20%	90,99	89,56
Hipoclorito de sódio 15'	95,91	93,51
Hipoclorito de sódio 30'	98,31	94,23

Avaliando a eficácia dos sanificantes na redução da população de mesófilos aeróbios e coliformes totais depois do tratamento de água, fica evidenciado, novamente, que o tratamento com maior eficácia foi aquele com hipoclorito de sódio a 200ppm por 30 min. Por outro lado, o tratamento de menor eficácia o vinagre a 2%, para ambos os grupos de microrganismos quantificados (TABELA 8).

Dessa forma, apesar do vinagre a 2% ser adotado e, até mesmo, preconizado como uma alternativa de baixo custo para a higienização de folhosos em restaurantes, os resultados do presente estudo não permitem recomendar este protocolo. Apesar do vinagre em concentração mais elevada (20%) ter permitido que percentagens de redução mais próximas ao hipoclorito de sódio fossem alcançadas, é preciso considerar que na presença de coliformes termo-tolerantes no T_0 , o vinagre não garantiu a redução dessas populações até níveis exigidos na legislação.

Ao lado disso, cabe ressaltar, que a exposição da alface crespa ao vinagre 20%, por 15 minutos, comprometeu as características das folhas, causando um escurecimento nas pontas e em algumas partes centrais das mesmas após cerca de uma hora e meia em temperatura ambiente. Portanto, este tratamento fica praticamente descartado para uso em restaurantes, pois muitas vezes as saladas ficam expostas no balcão de distribuição por mais de duas horas, principalmente as folhas de alface que estão sendo usadas como decoração.

A partir dos resultados observados, o tratamento com hipoclorito de sódio (200ppm) por 30 minutos é o mais recomendado, apesar do índice de redução (\log_{10}) ter ficado abaixo de 5 log, considerado seguro para situações onde há uma população microbiana inicial elevada (Lopez et al., 2003). Entretanto, outros estudos demonstraram que os níveis de redução comumente observados não são superiores a 2 log, o que remete à importância do controle da população inicial das hortaliças que chegam ao comércio. Assim, da mesma

forma que na cadeia de produção de alimentos de origem animal todas as etapas de produção, desde a granja até a mesa do consumidor, devem ser controladas para garantir um alimento seguro, também a cadeia de produção de hortaliças deve ser monitorada.

Ainda, é preciso considerar que os principais surtos relacionados ao consumo de alface foram causados pela *E. coli* 0157:H7, cuja dose infectante é baixa (aproximadamente 100 UFC/g). A investigação dos surtos, por sua vez, levou até às hortas como causa da contaminação, ou seja, à falta de conhecimento técnico e de monitoramento na produção de folhosos. Dos itens levantados nos estudos, as águas de irrigação contaminadas e a presença de animais nas hortas foram os mais relacionados aos surtos. Cabe ressaltar também que os estudos demonstraram que o modo de transporte e armazenamento dos vegetais consumidos crus estavam ligados tanto à contaminação cruzada como a uma multiplicação microbiana evidenciando a importância do monitoramento de toda a cadeia produtiva dos folhosos.

5 CONCLUSÕES

O presente estudo de avaliação dos diferentes protocolos de higienização de alface em restaurantes comerciais de dois bairros de Porto Alegre permite concluir que:

1 Os restaurantes diferiram em preço e oferta de produtos, mas não nos protocolos de higienização.

2 Os sanificantes mais usados foram a água sanitária e o vinagre;

3 As concentrações usadas não estavam previamente determinadas e, geralmente, estavam abaixo do recomendado.

4 O protocolo mais utilizado (imersão em água por 30 minutos) não garantiu a redução de mesófilos aeróbios.

5 O protocolo que usava hipoclorito a 200ppm por 30 minutos foi o mais eficaz.

6 As amostras de alface adquiridas no comércio de Porto Alegre não apresentavam elevado índice de coliformes totais e termo tolerantes.

A produção dos folhosos deve ser monitorada desde a produção até a mesa do consumidor.

6 PERSPECTIVAS

1 Conscientizar os profissionais da área que ao serem implantadas as Boas Práticas de Fabricação nos Serviços de Alimentação (restaurantes e cozinhas industriais), a procedência das hortaliças deve ser um item de controle.

2 Estabelecer a população máxima aceitável de mesófilos aeróbios e coliformes totais para o recebimento de folhosos.

3 Conscientizar os proprietários dos restaurantes visitados da necessidade de ter medidas exatas para solução sanitizante utilizada, qual o melhor sanitizante e sua diluição correta.

4 Avaliar a quantificação da população de mesófilos aeróbios, coliformes totais e coliformes termo tolerantes de folhosos nas diversas estações do ano em diferentes fornecedores em Porto Alegre.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLENDE, A.; AGUAYO, E.; ARTÉS, F. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. **International Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 91, p. 109-117, 2004.

ANDRADE, N. J.; MACÊDO, J. A. B. **Higienização na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, 1996. 182 p.

ARRUDA, G. A. **Manual de boas práticas**. 2. ed. São Paulo: Ponto Crítico, 1996. 191 p. 1 v.

BANWART, J. **Basic food microbiology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989. 773 p.

BEHSING, J. et al. Efficacy of chlorine for inactivation of *Escherichia coli* on vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 2, p. 187-192, 2000.

BENDER, J. B. et al. Food-borne disease in the 21st century. **Postgraduate Medicine**, New York, v. 106, n. 2, 1999.

BERBARI, S. A. G.; PASCHOALINI, J. E.; SILVEIRA, N. F. A. Efeito do cloro na água de lavagem para desinfecção de alface minimamente processada.

Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Campinas, v. 21, n. 2, p. 197-201, 2001.

BONILHA, P. R. M. Comparação das condições sanitárias entre as alfaces cultivadas e comercializadas na cidade de Araraquara – SP. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 4, p. 125-131, 1992.

BONILHA, P. R. M.; FALCÃO, D. P. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 5, p. 87-97, 1993/94.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução:** RDC nº216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre: Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Disponível em: <<http://www..anvisa.gov.br>>. Acesso em: 18 nov. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução:** RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www..anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

CABRINI, K. T. et al. Pesquisa de Coliformes totais e *Escherichia Coli* em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Limeira, São Paulo, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p. 92-94, 2002.

CANADA. Public Health of Canada (PHAC). Hospital outbreak of *Escherichia Coli* 0157:H7 associated with a rare phage type – Ontario. **Canada Communicable Disease Report**, Ontario, v. 23, n. 05, 1997. Disponível em: <<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/97vol23>>. Acesso em: 03 mai. 2005.

CANADA. Ontario Ministry of Agriculture and Food. Food Industry Division. **Food safety risk assessment: Food of plant origin: Lettuce.** Ontario, OMAF, 2001. Disponível em: <http://www.gov.on.ca/omafra/English/food/inspection/fruitveg/risk_assessment_pdf/lettuce/30ra.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2005.

CEASA/CAMPINAS. **Contém informações sobre hortifrutigranjeiros, padronizações.** 2003. Disponível em: <http://www.ceasacampinas.com.br/padronizacao_alface.htm>. Acesso em: 23 mar. 2004.

CHITARRA, M. I. F. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras, MG: Faepe, 1990. 293 p.

EIROA, M. N. U.; PORTO, E. Influência de diferente tipos de vinagre e de hipoclorito de sódio na sobrevivência de *Vibrio Cholerae* em folhas de alface (*lactuca sativa*) artificialmente contaminadas e sobre a microbiota natural. **Coletânea do ITAL**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 199-207, 1996.

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

FRANCO, B. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 196 p.

GELLI, D. S. et al. Condições higiênico sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 39, p. 37-43, 1979.

GROTTO, I. et al. An outbreak of norovirus gastroenteritis on an Israeli military base. **Infection**, Munchen, v. 39, n. 6, p. 339-343, 2004.

HILBORN, E. D. et al. A multistate outbreak of *Escherichia coli* 0157:H7 infections associated with consumption of mesclum lettuce. **Archives Internal Medicine**, Atlanta, v. 159, n. 15, p. 1758-64, 1999.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiénico-sanitário de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 1999. 376 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6^a. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712 p.

JOHANNESSEN, G. S.; LONCAREVIC, S.; KRUSE, H. Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 77, p. 199-204, 2002.

KAPPERUD, G. et al. Outbreak of *Shigella sonnei* infection traced to imported iceberg lettuce. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 33, p. 609-614, 1995.

KINTON, R.; CESERANI, V.; FOSKETT, D. **Enciclopédia de serviços de alimentação**. São Paulo: Varela, 1999. 479 p.

KIRK et al. A prolonged outbreak of *Campylobacter* infection at a training facility. **Communicable Diseases Intelligence**, Adelaide, v. 21, n. 6, p. 57-61, 1997.

LEITÃO, M. F. et al. Eficiência de desinfetantes na redução da contaminação bacteriana da alface. **Boletim do Itai**, Campinas, v. 18, p. 201-226, 1981.

LOPEZ, L.; ROMERO J.; DUARTE, F. Calidad microbiológica y efecto del lavado y desinfección en vegetales pretrazados expandidos en Chile. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 53, n. 4, p. 383-388, 2003.

LOPEZ, V. L.; ROMERO R. J.; URETA, V. F. Tratamientos de desinfección de lechugas (*Lactuca sativa*) y frutillas (*Fragaria chiloensis*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 51, n. 4, p. 376-381, 2001.

MAISTRO, L. C. Alface minimamente processada: uma revisão. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 219-224, 2001.

MERCOSUL/GMC. Grupo Mercado Comum. **Resolução nº 28 de 20 de junho de 2002**. Regulamento técnico mercosul para: Produtos de ação antimicrobiana. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 17 abr. 2004.

MICHINO, H. et al. Massive outbreak of Escherichia coli O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of radish sprouts. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 150, n. 8, p. 787-796, 1999.

MOSSEL, D. A. A. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1982. 375 p.

NASCIMENTO, M. S. et al. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal Food Technology**, São Paulo, v. 6, p. 63-68, 2003a.

NASCIMENTO, M. S. et al. Effects of different disinfection treatments on natural microbiota of lettuce. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 66, n. 9, p. 1697-1700, 2003b.

NASCIMENTO, M. S.; SILVA, N.; CATANOZI, M. P. L. M. Emprego de sanitizantes na desinfecção de vegetais. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 111, p. 42-47, 2003c.

NETA, R. X. B.; HOLLAND, N.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Análise dos perigos e pontos críticos de controle durante o preparo da alface servida no restaurante universitário da UFRGN. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 126/127, p. 36-43, 2004.

NUORTI, J. P. et al. A widespread outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis* O:3 infection from iceberg lettuce. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 189, n. 5, p. 766-74, 2004.

PAULA, P. et al. Contaminação microbiológica e parasitológica em alface (*lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói-RJ. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 535-537, 2003.

PELCZAR JR, J. M. et al. **Microbiologia**. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p. v. 1.

PHILIPPI, S. T. **Nutrição e técnica dietética**. Barueri: Manole, 2003. 390 p.

ROEVER, C. D. Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. **Food Control**, Guilford, v. 9, n. 6, p. 321-347, 1998.

ROSA, O. O.; CARVALHO, E. P. Características microbiológicas de frutos e hortaliças minimamente processados. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 84-92, 2000.

RUIZ, B. G.; VARGAS, G. R.; GARCIA-VILLANOVA, R. Contamination on fresh vegetables during cultivation and marketing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 4, p. 285-291, 1987.

SÃO PAULO. Centro de Vigilância Sanitária. **Portaria CVS-6 de 10 de março de 1999**: Regulamento técnico sobre: Parâmetros e critérios para o controle higiênico sanitário em estabelecimentos de alimentos. Disponível em: <<http://www..cvs.saude.sp.gov.br>>. Acesso em: 18 jun. 2004.

SENGUN, I. Y.; KARAPINAR, M. Effectiveness of household natural sanitizers in elimination of *Samonella typhimurium* on rocket (*Eruca sativa* Miller) and spring onion (*Allium cepa* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 98, p. 319-323, 2005.

SILVA JR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 5 .ed. São Paulo: Varela, 2002. 479 p.

SILVA JR, E. A.; MARTINS, E. da A. Análise microbiológica em cozinhas industriais. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 5, n. 17, p. 20-24, 1991.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com utilização de metodologias convencionais e o sistema simplate**. Piracicaba: ESALQ, 2002. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências e Tecnologia dos Alimentos, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 317 p.

SINGH, N. et al. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, Zürich, v. 35, p. 720-729, 2002.

SIQUEIRA, I. M. C et al. Avaliação microbiológica de saladas cruas e cozidas servidas em restaurantes industriais da grande Belo Horizonte – MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 49, p. 36-39, 1997.

SMITH, S. et al. Efficacy of a commercial produce wash on bacterial contamination of lettuce in a food service setting. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 66, n. 12, p. 2359-2361, 2003.

SORIANO, J. M.; RICO, H.; MOLTÓ, J. C. et al. Assesment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in University restaurants. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 58, n. 1-2, p. 123-128, 2000.

SORIANO, J. M.; PRIETO, I.; MOLTÓ, J. C. et al. A review of application of hazard analysis and critical control point system to salad served in the restaurant of Valencia University. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 40, n. 3, p. 333-336, 2005.

TAKAYANAGUI, O. M. et al. Fiscalização de verduras comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 37-41, 2001.

THUNBERG, R. L. et al. Microbial evaluation of select fresh produce obtained at retail markets. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 65, n. 4, p. 677-682, 2002.

YAÑES, L. de D. T. Processamento mínimo da alface. Disponível em: <<http://www.ciagri.usp.br/~ldyanez/>>. Acesso em 23 mar. 04.

ZHANG, S.; FARBER, J. M. The effects of various disinfectants against *Listeria monocytogenes* on fresh-cut vegetables. **Food Microbiology**, London, v. 13, n. 4, p. 311-321, 1996.

8 APÊNDICES

8.1 Apêndice 1- Questionário

8.2 Apêndice 2 - Análise da água sanitária

8.2 Apêndice 3 - Resultados das contagens

VITA

Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Filiação: Renan Marsiaj de Oliveira e
Magali Almeida de Oliveira

Data de Nascimento: 05/11/1955 - Porto Alegre - RS

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Microbiologia dos Alimentos
Faculdade de Agronomia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Março/04 a Junho/05

Pós-graduação em Química com Especialização em Tecnologia dos Alimentos
Universidade de Santa Cruz Do Sul de Agosto/93 a Agosto/94

Pós-graduação em Administração com Especialização em Recursos Humanos
Universidade de Santa Cruz do Sul - Setembro/89 –Dezembro 90

Formação Superior em Nutrição

Universidade do Vale do Rio dos Sinos – São Leopoldo 1974 – 1978

Segundo grau -Colégio Estadual Pio XII -1971-1973

Primeiro grau - Instituto Educacional João XXIII - 1966-1970

1ª a 4ª série - Colégio Farroupilha -1962-1965

HISTÓRICO PROFISSIONAL

Agosto /2004 até o momento	UFRGS - Curso de Nutrição
Professora substituta	Porto Alegre - RS

Agosto/2000 – Julho 2002	Sodexo
Supervisora de contrato	Porto Alegre - RS

Outubro/98 – Agosto/2000	Hospital São Lucas da PUC
Chefe de produção	Porto Alegre – RS

Janeiro/98 – Outubro/98	Refeições ao Ponto Ltda
Administradora de unidade	Charqueadas – RS

Setembro/94 – Outubro/97	Sodexo do Brasil Comercial Ltda
Supervisora Operacional	São José dos Campos – SP

Dezembro/93 – Julho/94	Prato Feito – J. L. Ind. Com. de Alimentos
Supervisora de Restaurantes	Santa Cruz do Sul – RS

Março/87 – Outubro/93
Nutricionista

Philip Morris Marketing S/A
Santa Cruz do Sul – RS

Setembro/83 – Dezembro/86
Sócia - Proprietária

Creche e Berçário Acalanto
Santa Cruz do Sul – RS