



Instituto **Nacional de Saúde**  
Doutor Ricardo Jorge

# Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos

em alimentos prontos para consumo e em superfícies  
do ambiente de preparação e distribuição alimentar

## Valores-guia





# **Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar**

## **Valores-guia**

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Setembro, 2019

Documento elaborado por:

Margarida Saraiva, Cristina Belo Correia, Isabel Campos Cunha, Carla Maia, Conceição Costa Bonito, Rosália Furtado, Maria Antónia Calhau

margarida.saraiva@insa.min-saude.pt (Porto)

cristina.belo@insa.min-saude.pt (Lisboa)

Departamento de Alimentação e Nutrição

Unidade de Referência

Laboratório de Microbiologia

Coleção: Documentos de orientação técnica

ISBN: 978-989-8794-52-9

© Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP 2019.

Reprodução autorizada desde que a fonte seja citada, exceto para fins comerciais.

Sugestão de citação:

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia. Lisboa: INSA IP, 2019.

Disponível *online* em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5610>

## Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

ALOP *Acceptable Level of Protection*

$a_w$  Atividade da água

BAL Bactérias ácido-láticas

BPA Boas Práticas Agrícolas

BPF Boas Práticas de Fabrico

BPH Boas Práticas de Higiene

BPHF Boas Práticas de Higiene e de Fabrico

c Número máximo de unidades que podem ter resultados marginalmente aceites

CAM Contagem de aeróbios mesófilos

CAC *Codex Alimentarius Commission*

CE Comissão Europeia

CM Critério microbiológico

DAN Departamento de Alimentação e Nutrição

DAEC *Escherichia coli* de aderência difusa

EAEC *Escherichia coli* enteroagregativa

EFSA *European Food Safety Authority*

EIEC *Escherichia coli* enteroinvasiva

EPEC *Escherichia coli* enteropatogénica

ETEC *Escherichia coli* enterotoxigénica

FAO *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FDL Fórmulas desidratadas para lactentes

HACCP *Hazard Analysis Critical Control Points*/Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos

HoReCa Hotel/Restaurante/Catering ou Café ou Cantina

ICMSF *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*

INSA Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

ISO *International Organization for Standardization*

LD Limite de deteção

M Limite que separa unidades analíticas não conformes

m Limite que separa unidades analíticas conformes de unidades marginalmente aceites

n Número de unidades que constituem a amostra

OESA Operadores das empresas do setor alimentar

PCC Pontos críticos de controlo

UE União Europeia

ufc Unidades formadoras de colónias

ufc/g Unidades formadoras de colónias por grama

ufc/ml Unidades formadoras de colónias por mililitro

UHT Ultrapasteurização

VMA Valor Máximo Admissível

VMR Valor Máximo de Referência

VTEC *Escherichia coli* verotoxigénica

WHO *World Health Organization*

# Índice

<b>Apresentação</b> .....	<b>2</b>
<b>Nota prévia</b> .....	<b>3</b>
Objetivo .....	3
Enquadramento .....	4
<b>1. Introdução</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Critérios microbiológicos</b> .....	<b>5</b>
2.1 Nota histórica .....	5
2.2 Definições de critérios microbiológicos .....	6
2.3 Componentes dos critérios microbiológicos .....	7
2.4 Tipos de critérios microbiológicos .....	8
<b>3. Programas de vigilância microbiológica</b> .....	<b>10</b>
<b>4. "Valores-guia INSA"</b> .....	<b>13</b>
4.1 Âmbito .....	13
4.2 Tipos de produtos .....	13
4.2.1 Alimentos prontos para consumo .....	13
4.2.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar .....	17
4.3 Plano de amostragem associado aos "Valores-guia INSA" .....	18
4.4 Fase a que os "Valores-guia INSA" se aplicam .....	19
4.5 Microrganismos e toxinas .....	19
4.6 Transporte de amostras e métodos de ensaio .....	22
4.7 Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos .....	22
4.7.1 Alimentos prontos para consumo .....	22
4.7.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar .....	22
4.8 Interpretação da qualidade microbiológica/estado higiénico das amostras analisadas .....	23
4.9 Limites microbiológicos para alimentos prontos para consumo e para superfícies .....	23
4.9.1 Alimentos prontos para consumo .....	23
4.9.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar .....	25
4.10 Análise de causas para implementação de ações corretivas .....	28
Bibliografia consultada .....	29

## Apresentação

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge concorre para a concretização das funções do Estado Português no quadro da prevenção da doença e proteção da saúde, produzindo e disponibilizando dados, informação e conhecimento resultantes da prossecução da sua missão e atribuições, através de aplicação de técnicas e métodos com elevada diferenciação técnica e científica.

Estas atividades, que dão corpo e concretizam estas funções essenciais, desenvolvem-se no interior dos departamentos técnico-científicos do Instituto de que é exemplo o Departamento de Alimentação e Nutrição e a quem compete a promoção da saúde, a prevenção de doenças de origem alimentar, cooperando com demais instituições para assegurar a saúde dos consumidores.

O Departamento de Alimentação e Nutrição, cujas atividades se orientam para o conhecimento aprofundado da situação do país, no âmbito da segurança alimentar e nutrição, vem agora apresentar os valores-guia para a interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de produção e distribuição alimentar, que revê e atualiza os valores-guia por si estabelecidos em 2005, tendo em conta novos conhecimentos e alargando o seu âmbito.

Sendo a microbiologia alimentar uma área dinâmica, os testes microbiológicos devem ser selecionados, aplicados e avaliados com conhecimento das suas limitações e benefícios e tendo em conta o propósito da análise.

O documento agora publicado, abreviadamente, designado por "Valores-guia INSA", pretende ser um instrumento facilitador para a interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar, como métrica de gestão do risco, podendo ser utilizado para validar o desempenho de processos e o sistema de gestão da segurança alimentar implementado.

Uma palavra final, de justo reconhecimento, a todos os colaboradores do Departamento pela competente preparação deste excelente documento.

*Fernando de Almeida*

Presidente do Conselho Diretivo

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP

## Nota prévia

### Objetivo

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), é um organismo público integrado na administração indireta do Estado, sob a tutela do Ministério da Saúde, sendo um laboratório de interesse estratégico nacional, laboratório do Estado no setor da saúde, laboratório nacional de referência e observatório nacional de saúde, que tem por missão contribuir para ganhos em saúde pública.

Integrado no INSA, ao Departamento de Alimentação e Nutrição (DAN), compete a promoção da saúde, a prevenção de doenças de origem alimentar e a melhoria do estado nutricional da população, através de investigação e desenvolvimento, vigilância, referência, prestação de serviços diferenciados, formação, informação e consultoria. Os Laboratórios de Microbiologia (Lisboa e Porto) do DAN têm tido como um dos principais propósitos da sua ação contribuir para a melhoria da segurança alimentar.

Os valores-guia definidos pelo INSA para interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo, tiveram a sua génese há mais de 40 anos, como documento interno onde eram definidas diretrizes microbiológicas elaboradas para interpretar os relatórios de ensaio emitidos pelo INSA. Em 2005 foram estabelecidos e divulgados os "Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração" e, desde então, têm sido um documento referência para operadores do setor alimentar, laboratórios e em estudos académicos. O presente documento "Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia", abreviadamente designado por "Valores-guia INSA" constitui

uma versão consolidada e atualizada, fundamentada na necessidade de colmatar algumas lacunas tendo em conta, novos hábitos alimentares e conhecimentos, bem como, a extensão do seu âmbito de forma a dar resposta a solicitações efetuadas ao INSA.

Estes valores-guia têm em atenção a legislação nacional e a regulamentação europeia, diferindo, por vezes, devido à fase do processo a que se aplicam e, de forma a antecipar a deteção de falhas no controlo dos pontos críticos. Foram tidas em consideração orientações e publicações da comunidade científica, entre as quais valores-guia internacionais, documentos do *Codex Alimentarius Commission* (CAC), da *World Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations* (WHO/FAO), da *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) e pareceres científicos da *European Food Safety Authority* (EFSA). Foi tida também em conta a experiência que a equipa dos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos do DAN adquiriu, não só no decurso das etapas de análise e interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo, em estudos de vigilância, monitorização investigação de surtos de tox infeção alimentar, no contexto de atividades em diversos grupos de trabalho, mas também em interação com empresas da área alimentar.

Esta edição dos "Valores-guia INSA" alarga o seu âmbito, para amostras de superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar incluindo mãos de manipuladores de alimentos, aplicável em estabelecimentos e instituições onde se preparam e/ou servem alimentos, refeições e bebidas que, por norma, são consumidos fora de casa como os que abreviadamente são definidos como setor

HoReCa (Hotel/Restaurante/*Catering* ou Café ou Cantina), mercados, veículos para venda ambulante, máquinas de venda automática, instalações utilizadas essencialmente como habitação privada nas quais os géneros alimentícios são regularmente preparados para colocação no mercado e ainda instituições que reconstituem fórmulas desidratadas para lactentes (FDL).

No âmbito da investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, as orientações contidas nos "Valores-guia INSA" podem ser utilizadas como instrumento de avaliação dos resultados de ensaios para microrganismos patogénicos em todos os ambientes de produção, preparação e distribuição alimentar, incluindo casas particulares.

Os "Valores-guia INSA" pretendem ser um instrumento facilitador para a interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar. Contribuindo com uma categorização dos indicadores microbiológicos em níveis de desempenho, os limites estabelecidos visam impulsionar uma eficaz avaliação e validação dos processos e o aperfeiçoamento dos sistemas de gestão da segurança alimentar implementados.

## Enquadramento

Para garantir a segurança dos géneros alimentícios, é necessário efetuar uma abordagem integrada, do prado/mar ao prato, considerando todas as etapas da cadeia alimentar, desde a produção primária e produção de alimentos para animais, até à venda ou fornecimento de géneros alimentícios ao consumidor na restauração, no *catering* ou em casa. As profundas mudanças de ordem económica, social, demográfica, cultural e alimentar que se têm verificado nas sociedades modernas, associadas a novos padrões de vida, conduziram a um aumento do número e da diversidade de refeições consumidas fora de casa e também das preocupações

com a qualidade e a segurança dos alimentos consumidos, por parte dos operadores do setor alimentar e dos próprios consumidores.

A nível nacional, o setor HoReCa de venda e de distribuição de alimentos prontos para consumo inclui um elevado número de estabelecimentos de restauração coletiva de acesso a grupos restritos (cantinas e refeitórios), que fornecem os seus serviços em locais de trabalho, em estabelecimentos de ensino (ex. jardins de infância e escolas de diferentes ciclos de ensino), em hospitais, em instituições sociais, em estabelecimentos abertos à população em geral como restaurantes, bares e similares, em meios de transporte, correspondendo a um elevado número de refeições *per capita* servidas e consumidas fora de casa.

A segurança alimentar no setor HoReCa corresponde a uma área de grande impacto em saúde pública, constituindo-se como uma prioridade para o INSA o estabelecimento de orientações para interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar.



## 1. Introdução

Os sistemas de gestão da segurança alimentar baseiam-se na implementação de medidas preventivas, tais como o cumprimento das Boas Práticas Agrícolas (BPA), das Boas Práticas de Higiene e de Fabrico (BPHF) e a aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), constituindo as análises microbiológicas uma parte do sistema de gestão do risco e de controlo dos perigos. Os testes microbiológicos podem ser utilizados para validar e monitorizar processos e pontos críticos de controlo (PCC) identificados através do sistema HACCP.

Neste contexto, os ensaios microbiológicos podem ser utilizados para verificar e validar se os PCC estão bem definidos e permanecem efetivamente sob controlo, permitindo assegurar que o controlo dos perigos microbiológicos é eficiente. As análises microbiológicas constituem uma das ferramentas adotadas na gestão da qualidade e segurança alimentar, podendo ser utilizadas, com diferentes objetivos, pelas entidades governamentais, pelos operadores das empresas do setor alimentar (OESA), pelos distribuidores, por organizações setoriais e por entidades que adquirem serviços destes setores. Podem ser efetuadas em todas as etapas da cadeia alimentar, para testar matérias-primas, produtos em processamento, produto final ou amostras do ambiente de produção, preparação e distribuição.

Os resultados obtidos nos ensaios microbiológicos podem ser utilizados, numa métrica de gestão do risco e controlo de perigos para avaliar a segurança de um lote de um género alimentício, o cumprimento das BPHF, a aceitabilidade de processos, a adequação da utilização de um género alimentício/matéria-prima para um determinado fim e o prazo de vida útil/data limite de utilização. Neste âmbito, a interpretação dos resultados microbiológicos obtidos na análise laboratorial, é frequentemente um aspeto difícil e complexo de todo o processo de avaliação da qualidade, sendo importante estabelecer limites de ação.

## 2. Critérios microbiológicos

### 2.1 Nota histórica

A partir da década de 70, o reconhecimento da importância da prevenção das doenças de origem alimentar e a preocupação com a segurança microbiológica dos alimentos adquiriram uma relevância crescente, impulsionando de modo decisivo o desenvolvimento de métodos analíticos. A necessidade de estabelecer critérios microbiológicos (CM) começou a ser sentida há cerca de 50 anos, para responder ao crescente interesse e preocupação com a saúde pública, tornando-se um desafio para os produtores do setor agroalimentar. Em Portugal, os primeiros valores-guia “Padrões bacteriológicos de alimentos portugueses” para a interpretação dos resultados microbiológicos de diferentes grupos de géneros alimentícios, crus e processados, de origem animal e vegetal foram publicados pelo Professor António Mário Ribeiro, em 1974, constituindo um contributo fundamental e um instrumento inovador adaptado à realidade nacional, numa época em que ainda não existia qualquer regulamentação para este tipo de produtos. Estes valores-guia, propostos pela Sociedade Portuguesa Veterinária de Higiene Alimentar e coligidos pelo próprio autor Professor António Mário Ribeiro, eram adaptados às condições existentes a nível nacional. Neste documento, os alimentos portugueses surgem divididos em 15 categorias, sendo abordados os métodos de amostragem, as técnicas de análise e a apreciação de resultados.

Em 1997, o *Institute of Food Science and Technology* do Reino Unido publicou o “*Development and use of microbiological criteria for foods*”, em consequência da necessidade de estipular limites críticos nos sistemas HACCP, verificar o seu cumprimento e fornecer informação em estudos de estabelecimento do prazo de vida útil e de avaliação do risco. Neste documento, são estabelecidas 19 categorias de géneros alimentícios, com a particularidade de serem tidas já em consideração a influência das instalações, equipamentos, ambiente de

produção, processo tecnológico e procedimentos, na caracterização microbiológica do produto alimentar e de efetuar uma avaliação, em conjunto com a experiência dos autores e as Diretivas Europeias já então implementadas para determinados géneros alimentícios.

Ainda em 1997, a CAC estabeleceu os princípios gerais e orientações para a implementação e aplicação de CM em alimentos, os quais foram revistos em 2013.

No início deste século, com a publicação do Livro Branco sobre a Segurança dos Alimentos, foi descrito um vasto conjunto de ações, com o objetivo, entre outros, de completar e modernizar a legislação alimentar europeia existente e torná-la mais compreensível para os consumidores. O pacote legislativo, também designado por Pacote de Higiene, publicado em 2004, assenta sobre o Regulamento (CE) N.º 178/2002, tendo como objetivo principal garantir um elevado nível de proteção da saúde humana e animal, com base numa abordagem global integrada ao longo da cadeia alimentar, na definição das responsabilidades dos diferentes intervenientes (operadores do setor alimentar, autoridades competentes responsáveis pela vigilância e controlo) e na implementação de um sistema de rastreabilidade ao longo de todas as fases da produção, transformação e distribuição.

Em 2005, com a publicação do Regulamento (CE) N.º 2073, surgiu uma regulamentação agrupada relativa a critérios microbiológicos aplicáveis a géneros alimentícios. No âmbito deste Regulamento, os géneros alimentícios sujeitos a controlo foram agrupados em diferentes categorias, ao longo das diversas etapas de produção, transformação e distribuição que integram a cadeia de produção alimentar. A entrada em vigor deste Regulamento sobrepôs-se à legislação nacional, revogando-a em muitos casos. Até 2005, muitos critérios microbiológicos eram definidos por regulamentação, não havendo, contudo, distinção entre critérios de segurança alimentar e critérios de higiene dos processos. A partir desta data, foram estabelecidos dois tipos de critérios distintos: critérios de segurança dos géneros alimentícios, aplicáveis aos produtos colocados no mercado (Capítulo 1 do

Anexo I do Regulamento), cujo incumprimento implica a não comercialização do produto, a sua retirada ou recolha do mercado ou, para os produtos que não se encontrem ainda a nível do comércio a retalho, a submissão a novo processamento que elimine o perigo em questão e Critérios de higiene dos processos, não aplicáveis aos produtos colocados no mercado (Capítulo 2 do Anexo I do Regulamento), cujo incumprimento implica como medidas corretivas a revisão das boas práticas de higiene, dos procedimentos, e do sistema de autocontrolo do estabelecimento e/ou melhoria na seleção das matérias-primas.

## 2.2 Definições de critérios microbiológicos

A partir da década de 80, podem ser encontradas definições relativas a CM, nomeadamente em documentos do *Codex Alimentarius* (1981), na *United States Subcommittee on Microbiological Criteria* (NRC, 1985) e na *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986). Segundo Jean-Louis Jouve (1996), CM é um conjunto de elementos qualitativos e quantitativos, definindo as características microbiológicas essenciais esperadas de um determinado produto que é possível atingir por meio de procedimentos adequados.

De acordo com a regulamentação europeia, CM é um critério que define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabolitos, por unidade(s) de massa, volume, área ou lote.

Mais recentemente, em 2013, podemos encontrar no *Codex Alimentarius* a definição de CM, como uma métrica da gestão do risco que indica a aceitabilidade de um alimento, ou o desempenho de um processo ou de

um sistema de controlo da segurança alimentar na sequência de amostragem e ensaio de microrganismos, suas toxinas, metabolitos ou fatores de virulência ou outros marcadores associados, num ponto específico da cadeia alimentar.

Um dos principais fundamentos para o estabelecimento de CM é a proteção da saúde do consumidor, devendo, entre outros objetivos, servir de suporte para a tomada de decisões, relativamente a um lote, a um processo, a um sistema de gestão da segurança alimentar e a medidas de controlo implementadas, com base em evidência científica gerada a partir de ensaios microbiológicos.

Neste contexto, podem ser aplicados em qualquer etapa da cadeia alimentar, devendo ser estabelecidos e implementados apenas quando se revele necessário e quando estiver evidenciado que a sua aplicabilidade é eficaz e prática, permitindo verificar e obter informação, entre outras, sobre a segurança de um género alimentício ou a eficácia do sistema de gestão da segurança alimentar.

## 2.3 Componentes dos critérios microbiológicos

Na criação de um critério, para o qual vão ser estabelecidos os limites, deve ter-se em consideração determinados fatores respeitantes ao tipo de produto que vai ser analisado, a suscetibilidade do alimento/superfície à contaminação com microrganismos patogénicos, as condições ambientais a que esteve ou poderá estar exposto, durante o armazenamento, preparação, confeção e distribuição e a vulnerabilidade dos consumidores finais.

Relativamente à seleção dos microrganismos que integram os critérios, esta está dependente, não só do tipo de produto e do propósito da análise, mas também da fase do processo em que ocorre a amostragem. Podem ser microrganismos patogénicos e/ou suas toxinas, fatores de virulência ou outros marcadores associados

(presentes num alimento ou ingrediente e potencialmente transmitidos aos consumidores), microrganismos de alteração e microrganismos indicadores de higiene.

De um modo geral, a definição de um CM deverá fundamentar-se em dados epidemiológicos, tendo por base o nível aceitável de proteção ou *Acceptable Level of Protection* (ALOP), evidenciando que, em determinadas condições, o género alimentício poderá constituir um risco para a saúde dos consumidores e que a aplicação de um critério associado à aplicação dos procedimentos de BPHF fornecerá uma garantia de proteção da saúde.

Assim, um CM deverá especificar e incluir, entre outros, os seguintes componentes:

- (i) o objetivo: avaliar inocuidade do lote, cumprimento das BPHF, adequação da utilização do género alimentício para determinado fim, prazo de vida útil estabelecido para consumo, sistema de segurança alimentar implementado, investigar surtos de toxinfecção alimentar;
- (ii) o género alimentício, processo ou sistema de gestão da segurança alimentar a que o critério é aplicável;
- (iii) a etapa ou o ponto específico da cadeia alimentar onde o critério é aplicável;
- (iv) os microrganismos, suas toxinas, fatores de virulência ou outros marcadores associados (indicadores de higiene, de alteração ou de segurança) e o fundamento para a sua seleção;
- (v) os planos de amostragem, incluindo "n", o número de unidades que constituem a amostra, o tamanho da amostra e as características e "c", o número máximo de unidades que podem ter resultados marginalmente aceites e a frequência de amostragem;
- (vi) os limites microbiológicos que separam unidades analíticas conformes de unidades marginalmente aceites "m" e os limites que separam unidades analíticas não conformes "M" ou outros limites (ex. nível de risco), considerados para cada produto, num ponto indicado da cadeia alimentar;

- (vii) os métodos de análise utilizados para a quantificação e/ou deteção;
- (viii) a interpretação dos resultados de ensaios microbiológicos;
- (ix) as medidas corretivas a implementar em caso de resultados não satisfatórios (quando os critérios não são cumpridos), para garantir o controlo do sistema de segurança alimentar e o produto com as características desejadas.

Com o Regulamento (CE) N.º 2073/2005, foram estabelecidos métodos com características de desempenho definidas, não existe tolerância para além dos limites estabelecidos nos critérios. No entanto, um documento da Comissão recomenda uma interpretação menos rigorosa dos limites estabelecidos para critérios de higiene dos processos.

## 2.4 Tipos de critérios microbiológicos

Os CM constituem uma das diversas ferramentas de gestão do risco disponíveis e utilizadas a nível global para garantir a segurança dos géneros alimentícios produzidos pelos OESA e disponíveis para consumo. Estes critérios podem ser de três tipos:

- Leis e Regulamentos – contidos em legislação internacional, nacional e regional e regulamentos. De cumprimento obrigatório, a sua aplicação é verificada pelas autoridades competentes, conduzindo o seu incumprimento à aplicação de sanções. Indicam o máximo aceitável/admissível de microrganismos de um determinado grupo, que garanta a proteção do consumidor, e que tecnicamente é possível não ultrapassar, utilizando um método definido (método de análise de referência) e um plano de amostragem estabelecido, para uma determinada categoria de alimentos. Um exemplo são os critérios estipulados no Regulamento (CE) N.º 2073/2005;
- Especificações Microbiológicas – aplicáveis a produtos crus, ingredientes, produtos semiacabados ou ao produto final constituindo um acordo contratual. São utilizadas em trocas comerciais e estabelecem os atributos de qualidade e segurança exigidos por um comprador a um fornecedor/vendedor, para um determinado produto. À semelhança das Leis e Regulamentos, também indicam um valor máximo aceitável/admissível de microrganismos. Podem incluir microrganismos indicadores ou de alteração, patogénicos e toxinas e pretendem garantir a segurança do produto ou a sua qualidade até à data limite de consumo, sendo frequentemente mais rigorosos do que a legislação. Podem ser de cumprimento obrigatório ou constituir apenas uma recomendação;
- Valores-guia – não são tão restritivos como os critérios anteriores, uma vez que são recomendações sem estatuto legal, nem vínculo contratual, podendo por vezes anteceder o estabelecimento de um regulamento. Constituem linhas de orientação para avaliação da qualidade microbiológica dos produtos, ou processos, geralmente estabelecidos por produtores, associações comerciais ou entidades governamentais. Estabelecem limites microbiológicos para um alimento e combinações de parâmetros microbiológicos, mas não definem planos de amostragem, nem métodos de análise. Estes valores são indicativos, pelo que o seu cumprimento não é obrigatório. São uma ferramenta para avaliação dos processos de produção e conservação de géneros alimentícios prontos para consumo, produtos intermédios de fabrico ou de matérias-primas, permitindo verificar se as BPHF e as datas estipuladas para o consumo de produtos estão sob controlo e se os produtos obtidos são seguros do ponto de vista microbiológico. Indicam se os resultados dos ensaios microbiológicos se situam dentro de níveis habitualmente aceitáveis e, deste modo, permitem efetuar uma análise de tendências e identificar situações que se encontram fora de controlo, alertando para a necessidade de

implementar medidas corretivas adequadas. Como não estão regulamentados acompanham as evoluções científicas, podendo ser rapidamente modificados e atualizados.

### 3. Programas de vigilância microbiológica

O objetivo dos programas de vigilância microbiológica é realizar uma avaliação microbiológica sistemática, de forma a avaliar o desempenho do sistema de gestão da segurança alimentar implementado e detetar atempadamente as medidas corretivas necessárias. A elaboração de um plano de amostragem com periodicidade predefinida, em datas não conhecidas pelos operadores, para proceder à recolha de amostras de géneros alimentícios e de superfícies do ambiente de produção, preparação e distribuição alimentar para análise microbiológica, é um dos processos utilizados para esta avaliação. Relativamente aos resultados de ensaios microbiológicos realizados, sempre que os limites microbiológicos estabelecidos forem excedidos, deverá ser efetuada uma análise de causas e implementadas, se necessário, medidas corretivas. Os programas de vigilância microbiológica visam, assim, obter o conhecimento dos perfis de contaminação, isto é, o nível máximo de microrganismos e a sua distribuição, nas unidades do setor alimentar onde estão implementados.

De acordo com o Regulamento (CE) N.º 852/2004, “Os operadores do sector alimentar são os principais responsáveis pela segurança dos géneros alimentícios,” e esta segurança é garantida através de uma abordagem preventiva resultante da aplicação geral dos procedimentos baseados nos princípios da Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP) e associados à observância de Boas Práticas de Higiene (BPH). Esta exigência legislativa significa que todos os operadores do setor alimentar deverão implementar BPH em combinação com o HACCP, alicerçando-se este sistema na implementação de programas de pré-requisitos que garantam a produção de géneros alimentícios seguros, isto é, que não constituam um risco para a saúde do consumidor.

A comparação entre os resultados de ensaios microbiológicos e CM estabelecidos, pode ser utilizada como um instrumento de validação e verificação de procedimentos do sistema HACCP e de outras medidas de controlo da higiene, de forma a verificar se o sistema de segurança alimentar implementado se encontra dentro de padrões microbiológicos desejáveis. Os CM podem ser utilizados pelos operadores, por entidades oficiais e por outros que queiram auditar o serviço, para interpretar resultados de ensaios microbiológicos.

Consequentemente, torna-se adequado estabelecer CM que definam a aceitabilidade dos processos, bem como CM dos géneros alimentícios que fixem um limite acima do qual um género alimentício deve ser considerado inaceitavelmente contaminado com os microrganismos a que os critérios se referem.

Muitos dos sistemas de vigilância epidemiológica de toxinfecções alimentares, assim como vários estudos, consideram a ocorrência de contaminações cruzadas, a incorreta higienização das mãos, de equipamentos e utensílios no decurso da preparação e distribuição, importantes fatores que contribuem para o aparecimento de toxinfecções alimentares. O meio ambiente e, em particular, o ambiente de preparação e distribuição alimentar, exercem uma influência determinante na ocorrência de contaminações cruzadas e, consequentemente, o controlo ambiental deverá ser parte integrante dos programas de vigilância microbiológica. Habitualmente, a expressão “contaminação cruzada” é proposta como um termo geral, referindo a transferência direta e indireta de microrganismos de um produto/superfície para outro. A contaminação cruzada a partir de alimentos crus e ingredientes/matérias-primas via superfícies de contacto como utensílios, recipientes, equipamentos e mãos, para alimentos prontos para consumo é o mais

importante fator de risco para a presença de alguns patogénicos, como por exemplo o *Campylobacter* e a *Listeria monocytogenes*.

De acordo com o preconizado no ponto 2, do artigo 5º do Regulamento (CE) N.º 2073/2005, “Serão colhidas amostras das zonas de transformação e do equipamento utilizado na produção de alimentos, sempre que tal for necessário para assegurar a observância dos critérios.”, “Os operadores das empresas do sector alimentar que produzam alimentos prontos para consumo susceptíveis de constituir um risco para a saúde pública devido à presença de *Listeria monocytogenes* devem proceder à amostragem das zonas e do equipamento de transformação com vista à detecção desta bactéria, no quadro do respectivo regime de amostragem.” e “Os operadores das empresas do sector alimentar que produzam fórmulas desidratadas para lactentes ou alimentos desidratados com fins medicinais específicos, susceptíveis de constituir um risco para a saúde pública devido à presença de *Enterobacter sakazakii*<sup>1</sup>, devem proceder à amostragem das zonas e do equipamento de transformação com vista à detecção de *Enterobacteriaceae* no quadro do respectivo regime de amostragem.”. Assim, em conformidade com o estabelecido na regulamentação europeia, a colheita de amostras das zonas de transformação e do equipamento utilizado na produção de alimentos, constituem um instrumento útil para identificar e prevenir a possível presença de microrganismos patogénicos nos géneros alimentícios.

Também o documento *Codex Alimentarius CAC/GL 61-2007 Guidelines on the Application of General Principles of Food Hygiene to the Control of Listeria monocytogenes in Ready-to-Eat Foods*, no ponto 5.9, refere “An effective environmental monitoring program is an essential component of a *Listeria* control program, particularly in establishments that produce ready-to-

-eat foods that support growth and may contain *L. monocytogenes*. Testing of food products can be another component of verification that control measures for *L. monocytogenes* are effective.”. O mesmo documento, no Anexo I, b) refere “Environmental samples consist of both food contact and non-food contact surface samples.” e no Anexo III, a) acrescenta “In certain instances, competent authorities may incorporate the testing of the environment (food contact and/or non-food contact surfaces) for *L. monocytogenes* (or an appropriate surrogate microorganism (e.g., *Listeria* spp.), as part of their regulatory requirements or activities.”.

A avaliação microbiológica de alimentos prontos para consumo e de superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar pode ser relevante no âmbito da investigação de um surto de toxinfecção alimentar, ou como evidência que contribua para validar e/ou verificar a adesão a medidas que efetivem o controlo dos processos de gestão da segurança alimentar.

É importante notar que os regulamentos não se destinam a criar requisitos de testes adicionais, uma vez que a validação/verificação faz parte integrante do correto funcionamento dos procedimentos baseados no HACCP e em boas práticas. Os operadores não devem depender exclusivamente dos regulamentos, nem estes pressupõem uma libertação de responsabilidades, tendendo à não execução de outros testes. Neste enquadramento, os operadores são encorajados a aplicar critérios de higiene que complementem aqueles que estão regulamentados, e ainda, que estes sejam incluídos como guias para boas práticas de higiene e para a aplicação dos princípios do HACCP.

Considerando o anteriormente exposto, é fundamental garantir que quer os ensaios microbiológicos, quer os CM selecionados, são pertinentes e significativos no

<sup>1</sup> A nomenclatura do *Enterobacter sakazakii* foi alterada para *Cronobacter* spp.

âmbito do fluxograma de produção, preparação e distribuição alimentar em causa, de modo a conduzirem a resultados microbiológicos que sejam facilmente interpretados e que na prática sejam orientadores e relevantes, para o programa de gestão do sistema de segurança alimentar implementado.



## 4. "Valores-guia INSA"

### 4.1 Âmbito

O presente documento "Valores-guia INSA" pode servir de base para a interpretação, no contexto de programas de vigilância microbiológica, de resultados de ensaios microbiológicos obtidos em amostras de alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar incluindo mãos de manipuladores de alimentos, aplicável em estabelecimentos e instituições onde se preparam e/ou servem alimentos, refeições e bebidas que, por norma, são consumidos fora de casa como os que abreviadamente são definidos como setor HoReCa (Hotel/Restaurante/*Catering* ou Café ou Cantina), mercados, veículos para venda ambulante, máquinas de venda automática, instalações utilizadas essencialmente como habitação privada nas quais os géneros alimentícios são regularmente preparados para colocação no mercado e ainda instituições que reconstituem fórmulas desidratadas para lactentes (FDL).

No âmbito da investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, as orientações contidas nos "Valores-guia INSA" podem ser utilizadas como instrumento de avaliação dos resultados de ensaios para microrganismos patogénicos em todos os ambientes de produção, preparação e distribuição alimentar, incluindo casas particulares.

A comparação dos resultados de ensaios microbiológicos obtidos nas amostras analisadas, com os limites estabelecidos neste documento pode permitir verificar a eficácia dos procedimentos adotados, contribuindo para avaliar o sistema de gestão da segurança alimentar implementado.

### 4.2 Tipos de produtos

#### 4.2.1 Alimentos prontos para consumo

A combinação de fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos leva a uma seleção de deteriorantes específicos durante a conservação dos produtos. Contagens similares de microrganismos em produtos idênticos podem corresponder a diferentes microrganismos deteriorantes quando conservados a diferentes temperaturas e atmosferas, o que pode originar alterações sensoriais num determinado produto, que outro pode não evidenciar.

Os limites estabelecidos neste documento têm em consideração as características intrínsecas como o pH e a atividade da água ( $a_w$ ), as extrínsecas como o tempo e a temperatura a que são submetidos e conservados, e os fatores implícitos como a interação entre microrganismos presentes no alimento. Também têm em conta os procedimentos de manipulação utilizados para obter os alimentos prontos para consumo. De salientar que existem tratamentos que apenas vão inativar enzimas ou destruir formas vegetativas dos microrganismos, pelo que o controlo da temperatura de distribuição e/ou de exposição são decisivos para controlar e limitar o desenvolvimento de microrganismos eventualmente presentes.

Os alimentos prontos para consumo, abrangidos nos "Valores-guia INSA" são produtos, no momento da distribuição, isto é, tal como vão ser servidos ao consumidor final e com um curto período de vida útil estabelecido para o consumo. A amostra colhida para análise deve incluir todos os componentes constituintes do prato, na mesma proporção e nas mesmas condições em que

são servidos. Caso a junção de produtos hortícolas crus ou frutos crus a um prato composto por alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados seja realizada no momento da entrega ao consumidor final, os dois componentes devem ser colhidos e analisados separadamente. Estes "Valores-guia INSA" também incluem critérios para alimentos prontos para consumo *Cook-chill* e *Cook-freeze* antes do processo de reaquecimento/regeneração.

Os novos "Valores-guia INSA" identificam 4 Grupos de alimentos prontos para consumo, ou seja, mais um Grupo do que os definidos nos anteriores. Os Grupos estão organizados da seguinte forma:

**Grupo 1** – Alimentos que sofreram tratamento térmico

**Grupo 2** – Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus, ou carne ou peixe crus, prontos para consumo

**Grupo 3** – Frutos e produtos hortícolas crus

**Grupo 4** – Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Estes 4 Grupos foram ainda subdivididos em Subgrupos de acordo com o nível de manuseamento após a confeção, o tipo e proporção de componentes e a população a que se destinam.

Na **tabela 1** estão indicados os Grupos e os Subgrupos de alimentos prontos para consumo considerados nos "Valores-guia INSA".

Tabela 1: “Valores-guia INSA” – Grupos e Subgrupos de alimentos prontos para consumo

## Grupo 1 – Alimentos que sofreram tratamento térmico

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
1A	<p><b>_Alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico</b></p> <p>estão incluídos os alimentos fracionados em porções individuais e os que levam cobertura colocada em quente e</p> <p><b>_Alimentos reconstituídos a partir de um produto desidratado, com exceção das FDL</b></p>	<p><b>Pratos/aperitivos, servidos quentes</b> Pratos servidos quentes, sopas. Alimentos de <i>Cook-chill</i> e <i>Cook-freeze</i>, após o reaquecimento/regeneração.</p> <p><b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Bolinhos/pastéis de bacalhau, bolas de bacalhau/carne, croquetes, empadas, filetes de peixe, folares, panados, pastéis de carne/marisco/peixe, <i>pizzas</i>, quiches/tartes salgadas, rissóis.</p> <p><b>Pastelaria e sobremesas</b> Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca sem canela, biscoitos e bolachas, bolo de chocolate com e sem cobertura, compotas, <i>croissants</i>, frutas assadas ou cozidas, gelatinas, mousses instantâneas, pastéis de nata, pudins, queques, tartes de maçã.</p>
1B	<p><b>_Alimentos totalmente cozinhados, manuseados após o tratamento térmico</b></p> <p>estão incluídos os alimentos adicionados de componentes processados, com baixo pH ou baixo <math>a_w</math>, como açúcar em pó, coco ralado, especiarias, frutos secos, maionese, mel, <i>ketchup</i>, xaropes de caramelo, de chocolate, de fruta, etc. ou congelados</p>	<p><b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Crepes com recheio, salada russa com maionese, saladas frias de arroz/batata/massa, produtos hortícolas cozinhados com delícias do mar/atum/bacalhau/frango/pato/peixe desfiados e/ou frutos secos, amêndoas, nozes e pinhões. Alimentos de <i>Cook-chill</i> e <i>Cook-freeze</i>, antes do reaquecimento/regeneração. Crustáceos e moluscos bivalves cozidos.</p> <p><b>Pastelaria e sobremesas</b> Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca com canela, bolas de Berlim, <i>éclaires</i>, <i>bavaroises</i>, <i>cheesecake</i> e gelados com natas ultrapasteurizadas (UHT). Crepes com recheio e/ou cobertura, mousse de bolachas/biscoitos, rolo/torta de laranja, saladas de fruta em calda, salame de chocolate.</p> <p><b>Sandes</b> Cachorro, hambúrguer no pão, prego no pão, sandes de atum/carne assada /panado.</p> <p><b>Bebidas</b> Tisanas/chás com aromas.</p>
1C	<p><b>_Alimentos com componentes totalmente cozinhados adicionados de componentes pasteurizados conservados em refrigeração</b></p> <p>não incluídos no Grupo 1B</p>	<p><b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Fiambres/mortadelas fatiados, saladas frias de arroz/massa com fiambre.</p> <p><b>Pastelaria e sobremesas</b> Gelados preparados com natas frescas, tartes com natas frescas, pastéis recheados com natas frescas.</p> <p><b>Sandes</b> Sandes de fiambre/mortadela/queijo flamengo.</p>
1D	<p><b>_Fórmulas desidratadas para lactentes (FDL) reconstituídas</b></p>	FDL reconstituídas, em biberão ou em copo.

Continua →

## Grupo 2 – Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus ou carne ou peixe crus, prontos para consumo

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
2A	<b>_Alimentos compostos</b> estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados adicionados de frutos/produtos hortícolas crus, em que os crus constituem apenas um apontamento, ou estavam congelados	<b>Pratos/aperitivos</b> Pratos cozinhados decorados com leves apontamentos de produtos hortícolas frescos (ex. coentros, hortelã, manjerição, salsa) ou frutos (ex. morango ou rodela de laranja/limão/tomate). <b>Sobremesas</b> Gelados de fruta. <b>Bebidas</b> Batidos de fruta congelada.
2B	<b>_Alimentos compostos</b> estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de frutos crus com ou sem molhos	<b>Pastelaria e sobremesas</b> Bolos/pastéis/tartes contendo fruta fresca, bolos/pastéis/tartes de natas frescas com frutas frescas, saladas de frutas com mistura de fruta fresca e fruta em calda. <b>Bebidas</b> Batidos de fruta.
2C	<b>_Alimentos compostos</b> estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus	<b>Pratos/aperitivos</b> Prato de carne/peixe/ovos contendo mistura de vegetais ou frutos crus. Paté de atum/camarão/delícias do mar com cebola, húmus, salada de feijão-frade com salsa, cebola e ovo cozido, saladas mistas compostas de alimentos cozinhados e vegetais crus. <b>Sandes</b> Sandes contendo produtos hortícolas (ex. alface, cebola, cenoura, tomate, rúcula) frescos.
2D	<b>_Alimentos compostos e/ou com queijo (fabricado com leite cru), carne/peixe crus</b> estão incluídos queijos (fabricados com leite cru), carne/peixe/marisco crus/marinados/fumados/salgados acompanhados ou não de alimentos totalmente cozinhados/frutos/produtos hortícolas/algas crus	<b>Pratos/aperitivos</b> <i>Sushi, Sashimi, Nigiri, Maki, Ceviche, Tártaro e Carpaccio</i> de peixe/carne. <b>Sandes</b> Sandes de chouriço/presunto/salmão fumado com ou sem alface, cebola, tomate.

## Grupo 3 – Frutos e produtos hortícolas crus

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
3A	<b>_Frutos e produtos hortícolas crus cortados</b> , ou preparados para consumo no próprio dia, com ou sem molhos, podendo incluir um pequeno apontamento de alimentos totalmente cozinhados <b>_Sumos de frutos e/ou de produtos hortícolas frescos</b> , para consumo no próprio dia	Fruta ao natural descascada, morangos e outros frutos vermelhos, saladas de frutas, saladas de produtos hortícolas crus (ex. alface, agrião, cebola, cenoura, rúcula, tomate), com ou sem molhos (ex. maionese, vinagrete) e com ou sem beterraba/milho cozidos. <b>Bebidas</b> Sumos de ananás/beterraba/cenoura/espinafres/frutos vermelhos/laranja/limão/tomate.
3B	<b>_Frutos e produtos hortícolas crus</b> minimamente processados (IV gama), incluindo <i>Baby Leaf</i> e rebentos	Fruta ao natural descascada, morangos e outros frutos vermelhos, saladas de frutas, saladas de produtos hortícolas crus (ex. alface, agrião, cebola, cenoura, rúcula, tomate), com ou sem molhos (ex. vinagrete, maionese).

## Grupo 4 – Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
NA	<b>_Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria</b> , classificar como Grupo 4 quando a flora específica interfere no ensaio ou de acordo com o Grupo (1, 2, 3) e Subgrupo respetivo	FDL contendo probióticos (4+1D), salada de alface com molho de iogurte (4+3A).

NA - Não Aplicável

## 4.2.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar

No ambiente de preparação e distribuição alimentar, podemos considerar a existência de zonas com características distintas de controlo da higiene, que estão interligadas e nas quais é necessário que sejam verificadas e avaliadas as BPH (**tabela 2**).

**Tabela 2:** Zonas no ambiente de preparação/distribuição alimentar

Zonas	Superfícies
1	Superfícies em contacto direto com os alimentos durante os processos de preparação, confeção ou distribuição
2	Superfícies adjacentes à zona 1 – contactam com o material que contém, acondiciona ou contacta com alimentos (ex. vitrinas, painéis de proteção, suportes de equipamentos, câmaras de refrigeração/congelamento ou células de arrefecimento rápido, panos, aventais/fardas)
3	Superfícies adjacentes à zona 2 – não contactam diretamente com os alimentos, nem com os materiais que os acondicionam (ex. pavimentos e ralos de escoamento, tetos, paredes, portas, material de limpeza)
4	Superfícies adjacentes às zonas de preparação/distribuição (ex. instalações sanitárias e vestiários, áreas de receção de matérias-primas e áreas de armazenamento)

As etapas de preparação e distribuição fluem através destas Zonas, em modo contínuo ou não, pelo que potencialmente poderá ocorrer a transferência de microrganismos (contaminações cruzadas) caso não sejam cumpridas as BPH.

No ambiente de preparação e distribuição alimentar as superfícies sobre as quais pode ser efetuada a amostragem são muito diversas, podendo incluir superfícies de qualquer uma destas 4 Zonas.

Em locais de preparação, confeção e distribuição de refeições e outros alimentos, e de venda ou de entrega ao consumidor final, como cantinas de empresas, instituições, restaurantes e outros estabelecimentos simi-

lares que preparam, confeccionam e distribuem alimentos prontos para consumo, a manipulação no decurso da preparação e na distribuição, assim como o tempo e as temperaturas de manutenção dos alimentos prontos para consumo no bufete ou no balcão, têm grande impacto na segurança alimentar. A amostragem destes alimentos prontos para consumo no ponto de distribuição para consumo direto, não é necessariamente representativa da qualidade microbiológica dos alimentos originais embalados ou dos ingredientes crus utilizados, mas reflete as condições de manuseamento e conservação aplicadas no local de venda/consumo (os tempos e as temperaturas de exposição até ao momento da venda/consumo, as práticas de lavagem das mãos pelos manipuladores de alimentos, a limpeza e desinfeção de utensílios, superfícies de trabalho, equipamentos e infraestruturas, etc.).

Os principais fatores a considerar num plano de controlo são a seleção e a localização das superfícies a amostrar e o método de colheita das amostras. Os esfregaços podem efetuar-se em área aleatória ou delimitada, obtendo-se um resultado que vai permitir estimar o nível de microrganismos ou detetar um determinado patogénico. Os “Valores-guia INSA” estão definidos para amostras de esfregaços efetuados em diversos tipos de superfícies com especificidades de área amostrada do seguinte modo:

**\_Superfícies da Zona 1, que contactam com o alimento pronto para consumo ou com a boca do consumidor e em que é facilmente exequível o esfregaço em 5 superfícies idênticas**

A área amostrada deve ser unicamente a área que poderá ficar em contacto com os alimentos ou com a boca do consumidor (ex. peças utilizadas diretamente pelo consumidor como pratos, taças, tigelas, colheres, garfos). Nestes casos, efetua-se o esfregaço em 5 peças, imergindo a zaragatoa no diluente entre cada

peça. O resultado expresso é o somatório do número de unidades formadoras de colónias (ufc) na superfície amostrada, dividido pelo número de peças amostradas. Este procedimento é aplicável a utensílios/superfícies higienizados, nos quais é esperado um baixo número de microrganismos;

#### **\_Superfícies da Zona 1 de preparação/distribuição**

A área amostrada deve ser a área que poderá ficar em contacto com os alimentos prontos para consumo ou não (ex. peça utilizada na preparação ou na distribuição como faca de corte, tábua de corte, lâmina da trituradora, pá para retirar o gelo, pinça de salada, concha da sopa, cuvette ou travessa, jarro para água). O resultado é expresso por peça, se a área amostrada for aleatória, ou por centímetro quadrado (cm<sup>2</sup>) se for utilizado um delimitador de superfície esterilizado (ex. 10 cm x 10 cm).

#### **\_Superfícies da Zona 2, que contactam com o recipiente que contém alimentos prontos para consumo**

A área a amostrar (ex. bancadas, vitrinas, frigoríficos, carros de transporte, tabuleiros) deve ser demarcada com um delimitador de superfície esterilizado (ex. 10 cm x 10 cm), sempre que são efetuados ensaios quantitativos;

#### **\_Superfícies de mãos de manipuladores de alimentos com ou sem luvas**

O esfregão deve ser efetuado nas palmas e nas costas das duas mãos, nos dedos e nas unhas e deve imergir-se a zaragatoa no diluente entre cada uma das fases, ao virar ou trocar de mão. O resultado expresso é o valor médio dos microrganismos presentes numa mão.

### **Situações particulares**

**\_A técnica de eluição (lavagem)** pode ser utilizada em superfícies permeáveis (ex. panos) e sempre que não é possível efetuar o método de esfregão (ex. biberões, garrafas).

**\_Sempre que o objetivo seja efetuar a pesquisa de microrganismos patogénicos** é recomendável amostrar áreas maiores, isto é, entre 1 000 e 3 000 cm<sup>2</sup>.

**\_No decurso da investigação laboratorial de um surto de tox infeção alimentar**, e em particular para a pesquisa de determinados microrganismos alvo (ex. norovírus e vírus da hepatite A) deverá ser seguido um procedimento de colheita específico.

### **4.3 Plano de amostragem associado aos “Valores-guia INSA”**

O Plano de amostragem para análise microbiológica é uma etapa fundamental, define o processo e a frequência para obtenção das amostras a testar e está condicionado pela informação desejada. O número de amostras a colher varia de acordo com o objetivo dos ensaios, nomeadamente, autocontrolo, programas de vigilância, pesquisa de microrganismos patogénicos para estudos de avaliação de risco e verificação da conformidade com a regulamentação, entre outros.

Os "Valores-guia INSA" aplicam-se a amostras únicas (valor n=1) e o objetivo não é a avaliação de lotes nem o controlo oficial. Estes limites foram estabelecidos para serem aplicados em programas de vigilância microbiológica do sistema de segurança alimentar implementado ou estudos de monitorização, não estando associados a um plano de amostragem formal.

Apesar do estabelecimento de planos de amostragem não fazer parte deste documento, é de realçar que a probabilidade de detetar processos não conformes, aumenta à medida que aumenta o número de unidades

analisadas, pelo que é importante estabelecer um plano de amostragem.

A frequência de amostragem deverá permitir uma avaliação de tendências ao longo do tempo, de modo a ser possível demonstrar o cumprimento contínuo das boas práticas. A periodicidade deverá ser apertada no início e ajustada à estabilidade de recursos humanos, de procedimentos e matérias-primas utilizadas, bem como planeada em função do histórico dos resultados obtidos na unidade.

Integrada neste plano, a colheita efetuada por uma entidade independente da entidade que exerce a gestão e/ou acompanhamento dos processos é uma mais valia na deteção de erros sistemáticos.

A vigilância microbiológica é uma ferramenta importante na verificação e validação dos processos e no controlo dos prazos estabelecidos para consumo, tratando-se de uma avaliação de desempenho através da comparação dos resultados de ensaios microbiológicos face a Valores-guia previamente estabelecidos.

#### 4.4 Fase a que os “Valores-guia INSA” se aplicam

Os alimentos prontos para consumo contemplados nos “Valores-guia INSA” são produtos no fim das etapas de preparação e/ou confeção, no momento da distribuição, isto é tal como vão ser servidos ao consumidor e com um curto período de vida útil estabelecido para o consumo. Também incluem critérios para alimentos *Cook-chill* e *Cook-freeze* antes da etapa de reaquecimento/regeneração. No âmbito da investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, as orientações contidas nos “Valores-guia INSA” podem ser utilizadas como instrumento de avaliação de resultados de ensaios para microrganismos patogénicos, em todos os ambientes de produção, preparação e distribuição alimentar, incluindo casas particulares.

Os “Valores-guia INSA” aplicam-se também a superfícies higienizadas e superfícies em laboração para indicadores de higiene e patogénicos. A amostragem de superfícies pode permitir evidenciar nichos de biofilmes microbianos, que surgem muitas vezes por aderência dos microrganismos a uma superfície, em consequência da acumulação de matéria orgânica, principalmente em recantos, em cavidades ou em superfícies curvas, pelo que é recomendável a amostragem antes do início da produção, de forma a detetar biofilmes que se desenvolveram entre o fim do procedimento de limpeza e o início da produção.

#### 4.5 Microrganismos e toxinas

Os microrganismos alvo podem ser microrganismos de grupos indicadores de higiene ou de alteração ou microrganismos patogénicos. Os microrganismos selecionados podem permitir monitorizar a implementação das BPHF, a eficácia do processo de produção, as condições de limpeza e higienização das mãos dos manipuladores de alimentos, dos equipamentos, utensílios e superfícies de trabalho, e as temperaturas e tempos a que os alimentos são sujeitos e mantidos no decurso das diversas etapas do processo de distribuição (ex. alimentos perecíveis que sejam mantidos por um prazo superior ao período de consumo estabelecido, podem evidenciar elevados níveis de microrganismos e perder qualidade).

As determinações efetuadas e os grupos de microrganismos selecionados devem ser adaptados ao tipo de alimento pronto para consumo e ao tratamento/processamento a que foi submetido, assim como apropriados ao motivo da análise. A caracterização de fatores de virulência e de resistência aos antimicrobianos nas estirpes isoladas, pode contribuir para esclarecer e relacionar a origem da contaminação detetada.

Os indicadores de higiene e de alteração utilizados nos “Valores-guia INSA” estão identificados e caracterizados na **tabela 3**.

Tabela 3: “Valores-guia INSA” – caracterização dos indicadores de higiene e de alteração utilizados

Microrganismos a 30 °C/Contagem de Aeróbios Mesófilos (CAM)	
Descrição	Conjunto de microrganismos viáveis que se desenvolvem a 30 °C em presença de oxigénio num meio de agar nutritivo. Inclui todas as células vegetativas e esporos de bactérias, leveduras e bolores. Os microrganismos mesófilos têm uma temperatura ótima de crescimento de 30 °C – 37 °C e uma temperatura mínima a cerca de 7 °C. Não efetua qualquer diferenciação entre a microflora natural, os microrganismos deteriorantes e os microrganismos patogénicos e reflete as condições a que o alimento foi sujeito. O número de microrganismos psicrotróficos ou psicrófilos pode ser um melhor indicador de deterioração em géneros alimentícios que são conservados em refrigeração ou em congelação.
Fonte de contaminação	Ambiente, matérias-primas e manipulação.
Interesse da análise	O teor em germes totais é mais elevado no caso do incumprimento das BPHF, utilização de matérias-primas de má qualidade, quebra da cadeia de frio, deficiente higienização de superfícies, ocorrência de contaminações cruzadas, falha/insuficiente tratamento térmico e uma temperatura/tempo manutenção e/ou conservação não controlados (ex. preparação com antecedência, manutenção a quente ou exposição a frio durante um tempo e temperatura inadequados, permanência prolongada à temperatura ambiente ou a temperaturas de refrigeração). À medida que aumenta o tempo de armazenamento, aumenta também a contagem de germes aeróbios mesófilos, o mesmo acontecendo se as temperaturas de refrigeração forem inadequadas, ou se o alimento for frequentemente retirado e reintroduzido no frigorífico. Perante níveis elevados > 10 <sup>6</sup> ufc/g é importante identificar a flora predominante para interpretar adequadamente o significado desses teores. Assim, por exemplo, uma alteração de sabor poderá ocorrer quando: bactérias ácido-láticas (BAL) >10 <sup>8</sup> ufc/g; bactérias Gram-negativas >10 <sup>7</sup> ufc/g; bactérias género <i>Bacillus</i> >10 <sup>7</sup> ufc/g e Leveduras >10 <sup>6</sup> ufc/g. No caso de alimentos com flora específica própria, níveis elevados não podem ser atribuídos a falta de higiene ou a uma alteração do produto, devendo na interpretação dos resultados ser tida em conta a razão flora aeróbia/flora láctica (CAM/BAL).
Bolores e Leveduras a 25 °C	
Descrição	Bolores e leveduras são fungos e têm a capacidade de desenvolvimento em condições adversas: baixas temperaturas, acidez, baixa a <sub>w</sub> . As leveduras são aeróbias facultativas enquanto que os bolores são aeróbios estritos. Os esporos dos bolores podem ser resistentes a temperaturas elevadas.
Fonte de contaminação	Disseminados no meio ambiente, e nos produtos de origem vegetal podem ser transferidos para os alimentos, por contacto com equipamentos contaminados ou por exposição ao ar, podendo ser contaminantes de ingredientes utilizados na preparação.
Interesse da análise	Importantes agentes de alteração estão geralmente associados à deterioração de alimentos ácidos, açucarados, com baixa a <sub>w</sub> ou fermentados. Degradam os alimentos frescos (frutos e legumes), os refrigerados (produtos cárneos e queijos), os secos (charcutarias) e os ácidos (sumos de frutos). Níveis de leveduras > 10 <sup>6</sup> ufc/g podem conferir uma alteração de sabor ao produto e níveis de 10 <sup>6</sup> – 10 <sup>7</sup> ufc/g podem causar deterioração devido à produção de ácido e de gás. Os bolores toxigénicos (produtores de micotoxinas) representam um perigo para a saúde do consumidor.
Bactérias ácido-láticas (BAL)	
Descrição	Este grupo inclui bacilos e cocos Gram-positivos não esporulados, aeróbios, microaerófilos ou anaeróbios facultativos. A maioria é inativada a temperaturas superiores a 70 °C. Inclui bactérias lácticas que utilizam preferencialmente a lactose como fonte de carbono são homofermentativas, produzem apenas ácido láctico, acidificando o produto (ex. <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> ) e espécies heterofermentativas, que adicionalmente produzem outros metabolitos como ácido acético, etanol e dióxido de carbono. Têm a capacidade de desenvolvimento a temperaturas de refrigeração e em alimentos embalados em atmosfera modificada, com ou sem CO <sub>2</sub> e em vácuo.
Fonte de contaminação	Disseminadas no meio ambiente (ex. vegetais, solos, águas, trato intestinal dos animais). Presentes em ambientes de preparação e processamento, em particular locais húmidos, refrigerados e não higienizados regularmente.
Interesse da análise	Bactérias ácido-láticas são não patogénicas, mas podem provocar uma alteração de sabor ou outras alterações sensoriais (fermentação e acidificação). Indicador da frescura do produto e avaliação do prazo de vida útil. No caso da contagem de CAM ser muito elevada com predomínio de bactérias ácido-láticas, se a razão CAM/BAL for <100, a segurança do produto não é posta em causa. A razão CAM/BAL é um importante indicador de avaliação da qualidade microbiológica em alimentos refrigerados e embalados com longos períodos de vida útil. A ação antagonista de espécies de BAL contra microrganismos indesejáveis e a sua utilização como probióticos em alimentos tem sido descrita em vários trabalhos.

Continua →



**Enterobacteriaceae a 37 °C**

<b>Descrição</b>	Grupo de microrganismos aeróbios anaeróbios facultativos. O ensaio preconizado nos "Valores-guia INSA" é realizado de acordo com a norma ISO 21528-2, a 37 °C, devendo a fermentação da glucose ser total às 24 horas. O ensaio em géneros alimentícios contendo frutos/produtos hortícolas crus deve ser preconizado enumerando as <i>Enterobacteriaceae</i> indicadoras de higiene e não sendo consideradas as <i>Enterobacteriaceae</i> ambientais.
<b>Fonte de contaminação</b>	Presentes naturalmente no trato gastrointestinal do Homem e de animais de sangue quente, em matérias-primas de origem vegetal, estando algumas também disseminadas no meio ambiente (ex. solo, água, ambientes marinhos).
<b>Interesse da análise</b>	<p>Permitem avaliar o estado higiénico de um género alimentício. A sua presença em alimentos que sofreram tratamento térmico significa que este foi inadequado ou que ocorreu uma contaminação após o processamento. Também é utilizado para avaliar a eficiência da lavagem e da desinfeção.</p> <p>Alguns membros deste grupo podem contribuir para a formação de histamina em certos alimentos, como certas espécies de peixes (ex. cavala e atum) e queijos (ex. queijos suíços, <i>cheddar</i>, <i>gruyère</i>, <i>edam</i>). Algumas espécies deste grupo desenvolvem-se em temperaturas de refrigeração. Os níveis detetados em produtos com longos prazos de validade devem ser analisados como indicadores de alteração e não indicadores de higiene. As <i>Enterobacteriaceae</i> constituem um bom indicador do cumprimento das BPH no fim do processo de fabrico de alimentos sujeitos a tratamento térmico. São um indicador de uma adequada lavagem e higienização e de um tempo de utilização controlado, em produtos contendo frutos, produtos hortícolas e outros alimentos crus prontos para consumo.</p> <p>São um grupo de microrganismos sensíveis aos tratamentos térmicos (baixa resistência ao calor) e destruídos pela maioria dos agentes desinfetantes utilizados na produção alimentar, na higienização de superfícies, de equipamentos e de instalações.</p> <p>O facto de o seu número ir aumentando durante o tempo de refrigeração, faz com que seja admitido no consumo um número mais elevado de <i>Enterobacteriaceae</i> do que no fim da produção.</p>

**Escherichia coli**

<b>Descrição</b>	Pertence à família das <i>Enterobacteriaceae</i> , tem capacidade para crescer em ambientes com temperaturas entre 7 °C e 46 °C, com uma temperatura ótima de desenvolvimento entre 35 °C e 40 °C. Algumas estirpes são comensais do trato intestinal do Homem e dos animais de sangue quente e outras são patogénicas.
<b>Interesse da análise</b>	<p>A sua presença em géneros alimentícios deve-se a contaminações cruzadas a partir de matérias-primas de origem animal e vegetal e do meio ambiente (ex. solo, água, ambientes marinhos).</p> <p>A sua presença indica um incumprimento das BPH, uma cozedura insuficiente ou contaminação cruzada a partir de alimento cru, em especial carne, do pessoal, ou das superfícies em contacto com o alimento, além de insuficiente temperatura e tempo na confeção. A deteção de <i>E. coli</i> não é um indicador fiável de que patogénicos fecais estejam presentes no alimento e a sua ausência não garante a ausência de patogénicos entéricos. No entanto é um bom indicador das BPH.</p> <p>Quando se suspeita de doença, são requeridos ensaios específicos para a deteção de estirpes patogénicas. O facto de o seu número ir diminuindo durante o tempo de refrigeração, faz com que seja admitido no consumo um número mais baixo do que no fim da produção.</p>

**Listeria spp.**

<b>Descrição</b>	Bacilos anaeróbios facultativos, que se desenvolvem a temperaturas normais de refrigeração, mas que demonstram uma resistência ao calor e aos desinfetantes mais elevada do que as <i>Enterobacteriaceae</i> .
<b>Fonte de contaminação</b>	Ambiente, matérias-primas e manipulações. Podem sobreviver nas áreas de processamento de alimentos e no equipamento se forem utilizadas práticas inadequadas de higienização.
<b>Interesse da análise</b>	Em alimentos submetidos a tratamento térmico a deteção de <i>Listeria</i> spp. indica cozedura insuficiente ou contaminação posterior, podendo a sua presença ser utilizada como indicador da avaliação do estado higiénico. A sua presença em número elevado pode dificultar a deteção e a contagem da <i>Listeria monocytogenes</i> .

## 4.6 Transporte de amostras e métodos de ensaio

A informação obtida nos resultados de ensaios microbiológicos é base de tomada de decisões com repercussões na garantia da qualidade. Se um resultado falso positivo pode originar uma desnecessária eliminação de um género alimentício ou alteração de um processo, com forte impacte financeiro, um resultado falso negativo pode ter sérias implicações em saúde pública. Adicionalmente, contagens inexatas podem originar uma apreciação errada do género alimentício, sob o ponto de vista microbiológico, podendo conduzir a posições competitivas desleais. Apesar de os “Valores-guia INSA” não estipularem um método de análise, relembra-se contudo, que foram estabelecidos para métodos com características de desempenho idênticas aos preconizados para métodos da *International Organization for Standardization* (ISO) ou métodos validados de acordo com a norma ISO 16140-2 *Microbiology of the food chain – Method validation – Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method*.

O transporte para o laboratório onde vão ser realizados os ensaios, das amostras de alimentos prontos para consumo e/ou de superfícies, deverá ser efetuado no período máximo de 24 horas e a uma temperatura controlada, entre 1 °C e 8 °C.

Após receção no laboratório, as amostras deverão ser mantidas em refrigeração a uma temperatura controlada de 1 °C a 5 °C. As amostras de géneros alimentícios devem ser analisadas num prazo máximo de 36 horas e as muito perecíveis, todas as que incluem ingredientes crus, assim como as de superfícies do ambiente de produção e distribuição alimentar num prazo máximo da 24 horas, excetuando amostras colhidas no âmbito da investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar.

As amostras estáveis à temperatura ambiente deverão ser mantidas em local seco, protegidas da luz, a uma temperatura de 18 °C a 27 °C e as amostras congeladas

ou ultracongeladas, deverão ser conservadas a uma temperatura < -15 °C, preferencialmente < -18 °C.

## 4.7 Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos

### 4.7.1 Alimentos prontos para consumo

A interpretação de resultados obtidos nos ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo, depende do número de unidades formadoras de colónias (ufc) por grama ou mililitro na amostra analisada e/ou da deteção ou não deteção de microrganismos patogénicos e/ou toxina(s) e classifica-os em 3 níveis:

- ▷ **Satisfatório** – o resultado analítico encontra-se dentro dos valores previstos, ou seja, inferior ou igual ao Valor Máximo de Referência (VMR),
- ▷ **Questionável** – o resultado analítico é superior ao VMR e inferior ou igual ao Valor Máximo Admissível (VMA) e indica que há probabilidade de existirem falhas nos processos. Recomenda-se que seja efetuada uma análise de causas, de forma a esclarecer a causa provável,
- ▷ **Não satisfatório e Não satisfatório/potencialmente perigoso** – o resultado analítico é superior ao VMA e indica que há falhas nos processos. Deve ser efetuada uma análise de causas, de forma a esclarecer a causa provável.

### 4.7.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar

A interpretação de resultados obtidos nos ensaios microbiológicos em superfícies classifica-os em 2 níveis:

- ▷ **Satisfatório** – o resultado analítico encontra-se dentro dos valores previstos, ou seja, inferior ou igual ao VMA,
- ▷ **Não satisfatório** – o resultado analítico é superior ao VMA e indica que há falhas nos processos. Deve ser efetuada uma análise de causas, de forma a esclarecer a causa provável.

## 4.8 Interpretação da qualidade microbiológica/estado higiénico das amostras analisadas

A interpretação, da qualidade microbiológica/estado higiénico das amostras analisadas, categorizada em níveis, é realizada tendo por base o conjunto de todos os resultados de todos os parâmetros microbiológicos ensaiados na amostra. É um indicador do desempenho do processo operativo e/ou do sistema de controlo da segurança alimentar implementado(s), bem como do prazo estipulado para consumo e está descrita na **tabela 4**.

A presença esporádica de resultados de microrganismos indicadores de higiene ou de alteração fora dos limites estabelecidos, não deve ser razão de alarme excessivo para os operadores de estabelecimentos do setor alimentar, mas sim constituir um alerta e é um imperativo esclarecer as causas de tais resultados. Estes devem ser sumariados sendo crucial a realização de uma análise de tendências para detetar a existência de problemas sistemáticos ou não, nos processos e no sistema de controlo implementado.

## 4.9 Limites microbiológicos para alimentos prontos para consumo e para superfícies do ambiente de preparação/distribuição alimentar

Os limites microbiológicos constantes dos “Valores-guia INSA” foram estabelecidos para que a incerteza analítica associada ao método de ensaio não seja levada em conta e, por conseguinte, a apreciação dos resultados de acordo com os “Valores-guia INSA” não deve ser afetada pela tolerância do valor da incerteza.

### 4.9.1 Alimentos prontos para consumo

Na **tabela 5** estão listados os limites estabelecidos nos “Valores-guia INSA” para alguns microrganismos patogénicos e toxinas. De sublinhar que outros microrganismos patogénicos e toxinas microbianas não elencados na tabela 5 se poderiam incluir, como *Clostridium* produtor de neurotoxina botulínica, vírus da hepatite A, parasitas entre outros.

Excetuando os microrganismos esporulados, cuja presença em baixos níveis é comum em muitos alimentos, as bactérias patogénicas não devem estar presentes

Tabela 4: “Valores-guia INSA” – interpretação da qualidade microbiológica/estado higiénico

Nível da qualidade microbiológica		Nível do estado higiénico	
Alimentos prontos para consumo	<b>Satisfatório</b> Todos os resultados de todos os parâmetros são satisfatórios	Superfícies do ambiente de preparação/distribuição alimentar	<b>Satisfatório</b> Todos os resultados de todos os parâmetros são satisfatórios
	<b>Questionável</b> Um ou mais do que um parâmetro com resultado questionável		
	<b>Não satisfatório</b> Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório		<b>Não satisfatório</b> Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório
	<b>Não satisfatório/potencialmente perigoso</b> Um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório/potencialmente perigoso		

Tabela 5: “Valores-guia INSA” – microrganismos patogénicos e toxinas em alimentos prontos para consumo

Microrganismos patogénicos e toxinas	Resultado Contagem (ufc/g ou ufc/ml) ou Pesquisa (em 25 g) <sup>Nota 1</sup>			
	Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/ potencialmente perigoso	Testes de referência
<i>Bacillus cereus</i> <sup>Nota 2</sup>	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – ≤10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	Confirmar a capacidade de produzir toxina, tipificação molecular
Outros <i>Bacillus</i> spp. patogénicos	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> – ≤10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	Tipificação molecular
<i>Clostridium perfringens</i>	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	Tipificação molecular, deteção do gene codificador da toxina na estirpe isolada
Estafilococos coagulase positiva	<10	10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	Tipificação molecular, deteção da patogenicidade (deteção do gene codificador da toxina na estirpe isolada ou verificar se a estirpe é produtora de toxina), resistência aos antimicrobianos
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado	Detetado	>10 <sup>2</sup>	Tipificação molecular e serotipagem das estirpes isoladas
<i>Campylobacter</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Cronobacter</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	
Enterotoxina estafilocócica	Não detetado	NA	Detetado	Identificação do grupo da toxina
<i>Escherichia coli</i> verotoxigénico (VTEC)	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Escherichia coli</i> patogénicos (EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC)	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
Norovírus	Não detetado	NA	Detetado	
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Shigella</i> spp.	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular
<i>Vibrio cholerae</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Não detetado	NA	Detetado	Tipificação molecular
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, tipificação molecular

NA – Não Aplicável

ufc/g – unidades formadoras de colónias por grama

ufc/ml – unidades formadoras de colónias por mililitro

**Nota 1** – Usualmente, o ensaio é realizado em 25 g ou em 25 ml de alimento por teste analítico; uma porção diferente pode ser requerida para algumas situações (ex. amostra insuficiente, preconizado em normas, investigação de surtos de toxinfecção alimentar).

**Nota 2** – FDL reconstituídas (Subgrupo 1D) – os limites a considerar são: Satisfatório <5x10<sup>1</sup>; Não satisfatório 5x10<sup>1</sup>-10<sup>3</sup>; Não satisfatório/potencialmente perigoso >10<sup>3</sup>.

em alimentos prontos para consumo. A sua detecção, em qualquer nível, é preocupante e deve ser sempre investigado o motivo da sua presença e avaliada com urgência uma resposta adequada ao nível de contaminação detetado.

Considerando que as bactérias patogénicas estão muitas vezes desigualmente distribuídas nos alimentos, os níveis de contaminação detetados e a subsequente interpretação dos mesmos podem variar entre as subamostras.

Na **tabela 6** estão listados os limites estabelecidos nos “Valores-guia INSA” para microrganismos indicadores de higiene e de alteração nos Grupos e Subgrupos de alimentos prontos para consumo definidos, colhidos na área de preparação/distribuição alimentar.

#### 4.9.2 Superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar

Na **tabela 7** estão listados os limites estabelecidos nos “Valores-guia INSA” para microrganismos a 30 °C e indicadores de higiene nas superfícies definidas.

Independentemente do tipo de zona a que pertence a superfície analisada, a detecção de microrganismos patogénicos e de *Listeria* spp. em superfícies de zonas do ambiente de preparação/distribuição alimentar dá origem a um resultado não satisfatório, devendo ser efetuada uma análise de causas, de forma a esclarecer a causa provável.

Tabela 6: “Valores-guia INSA” - microrganismos indicadores de higiene e de alteração em alimentos prontos para consumo

Microrganismos indicadores de higiene e de alteração	Grupo e Subgrupos	Resultado Contagens (ufc/g ou ufc/ml)		
		Satisfatório	Questionável	Não satisfatório
Microrganismos a 30 °C/Contagem de aeróbios mesófilos	1A, 1D <sup>Nota 1</sup>	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
	1B 2A	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - ≤10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	1C 2B	<10 <sup>5</sup> razão CAM/BAL ≤100 <sup>Nota 2</sup>	10 <sup>5</sup> - ≤10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>
	2D	<10 <sup>6</sup> razão CAM/BAL ≤100 <sup>Nota 2</sup>	10 <sup>6</sup> - ≤10 <sup>7</sup>	>10 <sup>7</sup>
	2C 3A, 3B	<10 <sup>6</sup> razão CAM/BAL ≤100 <sup>Nota 2</sup>	10 <sup>6</sup> - ≤10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup>
	4 <sup>Nota 1</sup>	<10 <sup>6</sup> razão CAM/BAL ≤100 <sup>Nota 2</sup>	10 <sup>6</sup> - ≤10 <sup>8</sup>	>10 <sup>8</sup> razão CAM/BAL >100
Leveduras	1A, 1B, 1D 2A	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
	1C 2B, 2D	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - ≤10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	2C, 3 4 <sup>Nota 1</sup>	<10 <sup>5</sup> NA	10 <sup>5</sup> - ≤10 <sup>6</sup> NA	>10 <sup>6</sup> NA
Bolores	1, 2, 3	<5x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup> - ≤10 <sup>3</sup>	>10 <sup>3</sup>
	4 <sup>Nota 1</sup>	NA	NA	NA
<i>Enterobacteriaceae</i> a 37 °C	1A, 1B	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> - ≤10 <sup>3</sup>	>10 <sup>3</sup>
	1D	Não detetado em 10 ml ou em 10 g <sup>Nota 3</sup>	Detetado em 10 ml ou em 10 g e ≤10 <sup>2</sup>	>10 <sup>2</sup>
	2A	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
	1C 2B, 2C, 2D 3A	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - ≤10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>
	3B	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - ≤10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i>	1	<10 (Não detetado)	NA	≥10
	2 3	<10 (Não detetado)	10 - ≤10 <sup>2</sup>	>10 <sup>2</sup>
	<i>Listeria</i> spp.	Todos os grupos	<10	10 - ≤10 <sup>2</sup>

NA – Não Aplicável

ufc/g – unidades formadoras de colónias por grama

ufc/ml – unidades formadoras de colónias por mililitro

CAM – Microrganismos aeróbios mesófilos

BAL – Bactérias ácido-láticas

**Nota 1** – Aplicável quando a flora específica interfere neste ensaio.**Nota 2** – Sempre que o resultado dos "Microrganismos a 30 °C" for superior ao VMR e inferior ou igual ao VMA, deverá ser tida em conta a razão CAM/BAL na interpretação do resultado em amostras que contenham componentes pasteurizados e/ou incluam componentes com flora específica própria.**Nota 3** – Sempre que se detetem *Enterobacteriaceae* a amostra deve ser submetida a testes para deteção de *Cronobacter* spp..

Tabela 7: “Valores-guia INSA” – microrganismos a 30 °C e indicadores de higiene em superfícies do ambiente preparação/distribuição alimentar

Zonas	Tipos de superfícies	Fase em que se aplica	Valor Máximo Admissível		
			Microrganismos a 30 °C	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i> / <i>Estafilococos</i> coagulase positiva
1	Contactam com o alimento pronto para consumo ou com a boca do consumidor (média de 5 utensílios iguais)	A - Prontas a utilizar (expostas ou guardadas)	$\leq 10^2$ ufc/peça	< 2 ufc/peça (inferior ao limite de deteção)	< 2 ufc/peça (inferior ao limite de deteção)
	Contactam com alimentos prontos para consumo ou com as matérias-primas	B - Prontas a utilizar (expostas ou guardadas)	$\leq 10^2$ ufc/peça ou $\leq 10^2$ ufc/100 cm <sup>2</sup> ou $\leq 1$ ufc/ml de capacidade da peça	<10 ufc/peça ou <10 ufc/100 cm <sup>2</sup> (inferior ao limite de deteção)	<10 ufc/peça ou <10 ufc/100 cm <sup>2</sup> (inferior ao limite de deteção)
2	Contactam com o recipiente que contém alimentos prontos para consumo (ex. bancadas, carros de transporte, tabuleiros, vitrinas de exposição, frigoríficos, panos, aventais/fardas de manipuladores a manusear alimentos prontos para consumo)	A - No decurso da laboração	$\leq 10^4$ ufc/100 cm <sup>2</sup>	<10 <sup>2</sup> ufc/100 cm <sup>2</sup>	<10 ufc/100 cm <sup>2</sup> (inferior ao limite de deteção)
		B - Logo após o processo de lavagem/higienização	$\leq 10^2$ ufc/100 cm <sup>2</sup>	<10 ufc/100 cm <sup>2</sup>	<10 ufc/100 cm <sup>2</sup> (inferior ao limite de deteção)
3	Manípulos de portas (ex. frigoríficos, vitrinas)	No decurso da laboração	NA	<10 <sup>2</sup> ufc/peça	<10 ufc/peça (inferior ao limite de deteção)
	Mãos de manipuladores de alimentos	A - Logo após o processo de lavagem/higienização	$\leq 5 \times 10^2$ ufc/mão	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)
		B - Logo após calçarem as luvas	$\leq 10^2$ ufc/mão	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)
		C - Com ou sem luvas no decurso do manuseamento de alimentos prontos para consumo do Grupo 1B	$\leq 10^3$ ufc/mão	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)
		D - Com ou sem luvas no decurso do manuseamento de recipientes/utensílios higienizados			
		E - Com ou sem luvas no decurso do manuseamento de recipientes/utensílios que contém alimentos prontos para consumo	$\leq 10^4$ ufc/mão	<10 <sup>2</sup> ufc/mão	<5 ufc/mão (inferior ao limite de deteção)

## 4.10 Análise de causas para implementação de ações corretivas

As medidas a tomar sempre que os resultados forem questionáveis ou não satisfatórios dependerão dos parâmetros que fundamentaram o estabelecimento do critério. Deve ser realizada uma análise de causas, tendo por finalidade o planeamento e a implementação de ações corretivas.

Questões que poderão integrar uma *Checklist* para análise de causas:

1. **Tempo/temperatura utilizado no tratamento térmico**  
Os procedimentos estão bem definidos e controlados?
2. **Tempo/temperatura entre a preparação e o consumo**  
O tempo/temperatura entre a preparação e o consumo estão definidos? Foram controlados? Se houve uma etapa de arrefecimento, esta foi rápida?
3. **Equipamento**  
O equipamento utilizado (estufas, frigoríficos, instrumentos de medição, etc.) está a funcionar corretamente? Foram verificadas as temperaturas?
4. **Equipa**  
Todo o pessoal está habilitado e familiarizado com todos os procedimentos? Todo o pessoal adere de uma forma sistemática às BPH e BPF?
5. **Prazo de validade e prazo de utilização**  
Estes prazos foram verificados e/ou estão bem definidos?
6. **Seleção e origem de matérias-primas cruas**  
Estão delineadas especificações que garantam a qualidade dos produtos? É efetuada uma avaliação de fornecedores? Os produtos encontravam-se em bom estado de conservação? Foram mantidos a temperaturas adequadas?
7. **Separação adequada entre circuitos limpos e circuitos sujos**  
Está estabelecido um circuito de marcha em frente para produtos, utensílios e equipamentos?
8. **Plano de limpeza e de higienização**  
O plano de limpeza e de higienização está a ser cumprido? Existem procedimentos de controlo para avaliar a sua eficácia? Há monitorização e acompanhamento frequente da limpeza/higienização das mãos dos manipuladores de alimentos e das superfícies do ambiente de preparação e distribuição? Os procedimentos de limpeza provocam a formação de aerossóis?
9. **Programas de pré-requisitos e procedimentos do sistema HACCP**  
Os programas e os procedimentos são adequados e estão atualizados?
10. **Análise de outras amostras de alimentos e de superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar**  
Foram efetuados ensaios para identificar e monitorizar as causas de resultados analíticos não satisfatórios?

A análise de causas deve permitir obter informação com vista a determinar a origem de resultados analíticos questionáveis ou não satisfatórios, o que irá facultar a implementação de ações corretivas promotoras do aperfeiçoamento do sistema de gestão da segurança alimentar implementado. Integrada nesta análise a monitorização ambiental é uma ferramenta importante ao investigar o(s) motivo(s) pelo(s) qual(is) os níveis estabelecidos nos critérios não são atingidos e/ou cumpridos.



## Bibliografia consultada

- (1) Abadias M, Usall J, Anguera M, et al. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol.* 2008;123(1-2):121-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013>
- (2) Acikel CH, Ogur R, Yaren H, et al. The hygiene training of food handlers at a teaching hospital. *Food Control.* 2008; 19(2):18(1)6-90. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.03.008>
- (3) Agence de la Santé Publique du Canada (ASPC). Pratiques en matière d'hygiène des mains dans les milieux de soins. 2012. [http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2012/aspc-phac/HP40-74-2012-fra.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2012/aspc-phac/HP40-74-2012-fra.pdf)
- (4) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). Avis relatif à la demande de création de documents de référence concernant des flores microbiennes utilisables en tant qu'indicateurs d'hygiène des procédés. 2008 AFSSA, saisie 2007-SA-0215. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2007sa0174.pdf>
- (5) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). Avis concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés. 2009 AFSSA, saisie 2007-SA-0174. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2008sa0359.pdf>
- (6) Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA). Avis relatif à la demande d'avis complémentaire concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés. 2009 AFSSA, saisie 2008-SA-0359. <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2008sa0359.pdf>
- (7) Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA). Inventaire des actions et des limites d'action et propositions d'harmonisation dans le cadre des contrôles officiels. Partie 2: Limites d'action pour les contaminants microbiologiques dans les denrées alimentaires (Juillet 2014). Annexe: Tableau avec les critères réglementaires et les limites d'action (EXL) (Janvier 2018). <http://www.afsca.be/publicationsthematiques/inventaire-actions.asp>
- (8) Almeida RCC, Kuaye AY, Serrano AM, et al., Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Rev Saúde Pública.* 1995;29(4):290-94. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101995000400006>
- (9) Almeida RCC, Matos CO, Almeida PF. Implementation of a HACCP system for on-site hospital preparation of infant formula. *Food Control.* 1999;10(3):181-7. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00016-X)
- (10) American Public Health Association. APHA Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of methods microbiological examination of foods. 4th ed. Washington DC: APHA, 2001.
- (11) Ayçiçek H, Aydoğan H, Kūçūkkaraaslan A, et al., Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. *Food Control.* 2004;15(4): 253-9. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00064-1](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00064-1)
- (12) Balzaretto CM, Marzano MA. Prevention of travel-related foodborne diseases: microbiological risk assessment of food handlers and ready-to-eat foods in northern Italy airport restaurants. *Food Control.* 2013;29(1):202-7. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.077>
- (13) BC Centre for Disease Control. Environmental hygiene monitoring: a guide for environmental health officers (Version 3, October 5, 2010). Vancouver, BC: Provincial Health Services Authority.
- (14) Begani R, Tombe B, Polong T. Effectiveness of cleaning and sanitation of food contact surfaces in the PNG fish canning industry. *Contemporary PNG Studies.* 2012;17: 68-82.
- (15) Bonito CC, Lopes TT, Pena C, et al. Avaliação do número de *Bacillus cereus* e do número de bolores, em especiarias e ervas aromáticas desidratadas, embaladas. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2015;4(Supl 5):22-24. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3012>
- (16) Bourgeois CM, Leveau JY. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires: Tome 3: Le contrôle microbiologique. Paris: Lavoisier/Tec & Doc, 1991
- (17) Bryan Frank L. L'analyse des risques - points critiques pour leur maîtrise: comment apprécier les risques liés à la préparation et à la conservation des aliments. Genève: Organisation mondiale de la Santé, 1994. <http://www.who.int/iris/handle/10665/39631>
- (18) Bunning VK, Lindsay JA, Archer DL. Chronic health effects of microbial foodborne disease. *World Health Stat Q.* 1997;50(1-2):51-6.
- (19) Carpentier B, Barre L; French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety – Maisons-Alfort Laboratory for Food Safety. Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes* (Version 3 – 20/08/2012).
- (20) Center for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities, 2003. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/environmental/background/sampling.html>
- (21) Center for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2015: annual report. Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2017. [https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/2015FoodBorneOutbreaks\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/2015FoodBorneOutbreaks_508.pdf)
- (22) Centre for Food Safety, Hong Kong. Microbiological Guidelines for Food: for ready to-eat food in general and specific food items, Queensway, HK, 2015.
- (23) Centre Québécois d'inspection des Aliments et de Santé Animale. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, (MAPQ). Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, 2009. <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/recueil.pdf>
- (24) Çetin Ö, Kahraman T, Kemal Büyükkunal S. Microbiological evaluation of food contact surfaces at red meat processing plants in Istanbul, Turkey. *Ital. J. Anim. Sci.* 2006;5:277-83. <https://doi.org/10.4081/ijas.2006.277>
- (25) Chilled Food Association, British Retail Consortium. Guidance on the Practical Implementation of the EC Regulation on Microbiological Criteria for Foodstuffs – edition 1.2, Dec 2006.

- (26) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/RCP 1-1969 Recommended international code of practice general principles of food hygiene.
- (27) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/RCP 53-2003 Code of hygienic practice for fresh fruits and vegetables.
- (28) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/GL 21-1997. Principles and guidelines for the establishment and application of microbiological criteria related to foods (). <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/>
- (29) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/GL 61-2007. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/>
- (30) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/RCP 39-1993. Code of hygienic practice for precooked and cooked foods in mass catering.
- (31) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/RCP 8-1976. Recommended international code of practice for the processing and handling of quick frozen foods
- (32) Codex Alimentarius, International Food Standards. CAC/GL 79-2012. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of viruses in food. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/>
- (33) Collins CH, Lyne M. Microbiologic methods. 5th ed. London: Butterworth&Co (Publishers) Ltd, 1985.
- (34) Comissão Europeia (CE). Regulamento n.º 178/2002, 28 de Janeiro. Determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. JO L 31 de 1.2.2002: 1-24. <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj>
- (35) Commission des Communautés Européennes (CCE). Document d'orientation de la Commission européenne relatif à l'échantillonnage et à l'analyse microbiologique des denrées alimentaires dans le cadre des contrôles officiels effectués en application du règlement (CE) n°882/2004. Bruxelles, le 13 novembre 2006. [http://www.adoca.fr/wa\\_files/Document\\_20d\\_27orientation\\_20relatif\\_20\\_C3\\_A0\\_20\\_27\\_C3\\_A9chantillonnage.pdf](http://www.adoca.fr/wa_files/Document_20d_27orientation_20relatif_20_C3_A0_20_27_C3_A9chantillonnage.pdf)
- (36) Comissão Europeia (CE). Regulamento n.º 2073/2005, de 15 de novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios e subsequentes alterações. JO L 338 de 22.12.2005:1-26. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj>
- (37) Comissão Europeia (CE). Regulamento n.º 852/2004, de 29 de abril, relativo à higiene dos géneros alimentícios. JO L 139 de 30.4.2004:1-54. <http://data.europa.eu/eli/reg/2004/852/oj>
- (38) Comissão Europeia (CE). Regulamento n.º 2073/2005, de 15 de novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios e subsequentes alterações. JO L 338 de 22.12.2005:1-26. <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj> (atualizado em 01.01.2018).
- (39) Comité sur l'élaboration des critères microbiologiques dans les aliments (CECMA), Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation Québec (MAPAQ). Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire, 2009.
- (40) Comité Scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (SciCom). AVIS 11-2017: Priorisation des risques microbiologiques et directives pour garantir a sécurité alimentaire microbiologique des denrées alimentaires végétales crues et minimalement transformées en Belgique (SciCom 2013/12 : auto-saisine). [http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2017/\\_documents/Avis11-2017\\_SciCom2013-12\\_Legumesfruitmicrobiologie.pdf](http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2017/_documents/Avis11-2017_SciCom2013-12_Legumesfruitmicrobiologie.pdf)
- 41) Correia CB, Bonito CC, Barreira MJ, et al. Análise de dados microbiológicos de géneros alimentícios prontos a comer servidos no ano de 2013 em unidades de restauração coletiva. Boletim Epidemiológico Observações. 2015;4(Supl 5):13-17. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3010>
- (42) Correia CB, Cunha IC, Maia C, et al. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares (2008-2011). Boletim Epidemiológico Observações. 2013 outubro-dezembro;2(6):3-5. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1747>
- (43) Cosby CM. A Sanitation Assessment of food contact surfaces in child care centers using microbiological analysis and rapid sanitation assays. Master's theses. University of Tennessee, Knoxville, 2005. [https://trace.tennessee.edu/utk\\_gradthes/1851/](https://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/1851/)
- (44) Cosby CM, Costello CA, Morris WC, Haughton B, Devereaux MJ, Harte F, & Davidson, PM. Microbiological Analysis of Food Contact Surfaces in Child Care Center. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(22), 6918–6922. <http://doi.org/10.1128/AEM.00547-08>
- (45) Courtenay M, Ramirez L, Cox B, et al. Effects of various hand hygiene regimes on removal and/or destruction of *Escherichia coli* on hands. Food Service Technology. 2005;5(2-4):77-84. <https://doi.org/10.1111/j.1471-5740.2005.00114.x>
- (46) Cruickshank R, Duguid JP, Marmion BP, et al. Microbiologia Médica. 4ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1975. (vol. 2)
- (47) Daelman J, Jacxsens L, Devlieghere F, et al. Microbial safety and quality of various types of cooked chilled foods. Food Control. 2013;30:510-17. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.049>
- (48) Dancer SJ. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals. J Hosp Infect. 2004 Jan;56(1):10-5. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2003.09.017>
- (49) Debevere J. Valeurs microbiologiques indicatives & critères microbiologiques légaux. Université de Ghent (Belgique), Faculté des Sciences en Bio-ingénieur, 2006.
- (50) Decreto-Lei n.º 27/2012, 8 de fevereiro. DR 1ª Série, n.º 28: 635-39. Aprova a orgânica do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I. P. <http://data.dre.pt/eli/dec-lei/27/2012/02/08/p/dre/pt/html>
- (51) Direzione Sanità della Regione Piemonte. Determinazione n.780 del 18 ottobre 2011. Linna Guida per l'analisi del rischio nel campo della microbiologia degli alimenti. (Rev. 00/2013). [http://www.ceirsa.org/docum/allegato\\_punto4.pdf](http://www.ceirsa.org/docum/allegato_punto4.pdf)
- (52) Doyle MP, Ruoff KL, Pierson M, et al. Reducing transmission of infectious agents in the home. Part I: Sources of infections. Dairy, Food and Environmental Sanitation. 2000;20(5):330-7.
- (53) Dromigny, E. Les critères microbiologiques des denrées alimentaires: réglementation, agents microbiens, autocontrôle. Nantes: Lavoisier, 2012.

- (54) Commission of the European Communities. Guidance document on official controls, under Regulation (EC) No 882/2004, concerning microbiological sampling and testing of foodstuffs. Brussels, 13 November 2006. [https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/oc\\_leg\\_guidance\\_sampling\\_testing\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/oc_leg_guidance_sampling_testing_en.pdf)
- (55) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. *EFSA Journal*. 2016;14(7):4524. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4524>
- (56) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Public health risks associated with Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) as a food-borne pathogen. *EFSA Journal*. 2015;13(12):4330. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4330>
- (57) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (Salmonella and Norovirus in leafy greens eaten raw as salads). *EFSA Journal*. 2014;12(3):3600. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3600>
- (58) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (Salmonella and Norovirus in berries). *EFSA Journal*. 2014;12(6):3706. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3706>
- (59) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (Salmonella Yersinia, Shigella and Norovirus in bulb and stem vegetables, and carrots). *EFSA Journal*, 2014;12(12):3937. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3937>
- (60) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA Journal*. 2013;11(4):3138. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3138>
- (61) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal*. 2013;1(1):3025. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3025>
- (62) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to *Clostridium* spp in foodstuffs. *EFSA Journal*. 2005;199:1-65. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.199>
- (63) European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*. 2017;15(12):5077. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077>
- (64) European Food Safety Authority (EFSA); Allende A, Barre L, Jacxsens L, et al. Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *Listeria monocytogenes*. *EFSA Journal*. 2018;15(7):1445E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1445>
- (65) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Ricci A, Allende A, Bolton D, et al. Guidance on the requirements for the development of microbiological criteria. *EFSA Journal*. 2017;15(11):e05052. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5052>
- (66) European Tea Committee (ETC), European Herbal Infusions Association (EHIA). Compendium of Guidelines for Herbal and Fruit Infusions, 2014. [http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2014-06-27\\_Compendium\\_of\\_Guidelines\\_for\\_Herbal\\_Infusions\\_-\\_ISSUE\\_5.pdf](http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/2014-06-27_Compendium_of_Guidelines_for_Herbal_Infusions_-_ISSUE_5.pdf)
- (67) Evancho GM, Sveum WH, Moberg, LJ, et al. Microbiological monitoring of the food processing environment. In: Downes FP, Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2001, pp. 25-34.
- (68) Fédération du Commerce et de la Distribution (FCD). Critères microbiologiques applicables à partir de 2015 aux marques de distributeurs, marques premiers prix et matières premières dans leur conditionnement initial industriel (Version du 28/01/2016). [http://www.fcd.fr/media/filer\\_public/cb/d0/cbd057e4-e8b3-4ebd-b298-34f92c85267b/1201\\_fcd\\_criteres\\_microbiologiques\\_2016\\_produits\\_ls\\_mp\\_28012016.pdf](http://www.fcd.fr/media/filer_public/cb/d0/cbd057e4-e8b3-4ebd-b298-34f92c85267b/1201_fcd_criteres_microbiologiques_2016_produits_ls_mp_28012016.pdf)
- (69) Fédération du Commerce et de la Distribution (FCD). Critères microbiologiques applicables à partir de 2015 aux activités de fabrication, préparation, découpe ou simple manipulation de Denrées nues en rayon "à la coupe" et en atelier en magasin (Version du 28/01/2016). [http://www.fcd.fr/media/filer\\_public/7e/51/7e51261b-e18d-4c9f-be28-5dad72e4cfd0/1200\\_fcd\\_criteres\\_microbiologiques\\_2016\\_ateliers\\_rayons\\_coupe\\_28012016.pdf](http://www.fcd.fr/media/filer_public/7e/51/7e51261b-e18d-4c9f-be28-5dad72e4cfd0/1200_fcd_criteres_microbiologiques_2016_ateliers_rayons_coupe_28012016.pdf)
- (70) Foddai AC, Grant IR, Dean M. Efficacy of instant hand sanitizers against foodborne pathogens compared with hand washing with soap and water in food preparation settings: a systematic review. *J Food Prot*. 2016;79(6):1040-54.
- (71) Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO). *Statistical Aspects of Microbiological Criteria Related to Foods. A Risk Managers Guide*. Microbiological Risk Assessment; 2016; Series, no 24. Rome.
- (72) Food and Drug Administration (FDA). Guidelines for effectiveness testing of surgical hand scrub (glove juice test) Federal Register; 1978,43,1242-3. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-492>
- (73) Food Authority NSW. Environmental swabbing: a guide to method selection and consistent technique, 2003 (F1170/1303.)
- (74) Food Authority NSW. Food safety guidelines for the preparation and display of sushi, 2007 (NSW/FA/FI005/0706). [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/\\_Documents/retail/sushi\\_preparation\\_display\\_guidelines.pdf](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/retail/sushi_preparation_display_guidelines.pdf)
- (75) Food Authority NSW. Controlling listeria monocytogenes in the food processing environment. Guide for the development of an environmental monitoring program, 2016 (NSW/FA/FI269/1607). [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/\\_Documents/industry/controlling\\_listeria\\_monocytogenes\\_food\\_processing.pdf](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/_Documents/industry/controlling_listeria_monocytogenes_food_processing.pdf)
- (76) Food Safety Authority of Ireland (FSAI). Guidelines for the interpretation of results of microbiological testing of ready-to-eat foods placed on the market (revision 2). July 2016. [https://www.fsai.ie/publications\\_gn3\\_microbiological\\_limits/](https://www.fsai.ie/publications_gn3_microbiological_limits/)
- (77) Food Safety Authority of Ireland (FSAI). 3rd Trimester National Microbiological Survey 2006 (06NS3): examination of the microbiological status of food preparation surfaces. [https://www.fsai.ie/uploadedfiles/food\\_prep\\_surfaces.pdf](https://www.fsai.ie/uploadedfiles/food_prep_surfaces.pdf)

- (78) Food Safety Authority of Ireland (FSAI). Guide to Food Safety Training - Level 1 - Induction Skills and Level 2 - Additional Skills - for Food and Non-food Handlers (Food Service, Retail and Manufacturing Sectors), 2015. <https://www.fsai.ie/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=8310>
- (79) Food Standards Agency (FSA). General Guidance for Food Business Operators. EC Regulation No. 2073/2005 Microbiological Criteria for Foodstuffs, 2006. <http://www.foodlaw.rdg.ac.uk/pdf/uk-06001-micro-criteria.pdf>
- (80) Food Standards Australia New Zealand (FSANZ). Compendium of Microbiological Criteria for Food, 2016 (revised January 2018). [http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Compendium%20of%20Microbiological%20Criteria/Compendium\\_revised-jan-2018.pdf](http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Compendium%20of%20Microbiological%20Criteria/Compendium_revised-jan-2018.pdf)
- (81) Furtado R, Coelho A, Correia CB, et al. Enterotoxinas estafilocócicas em géneros alimentícios. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2014;3(Supl 3):48-50. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2298>
- (82) Gilbert R, De Louvois J, Donovan T, et al. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. Commun Dis Public Health*. 2000 Sep;3(3):163-7.
- (83) Giovinazzo R, Caradonna L, Giaquinta G, et al. Benchmark guidance values for microbiological monitoring on surfaces: a literature overview. *Biomedicine & Prevention*. 2017;4(135):174-80. doi10.19252/000000087.
- (84) Gorris, Leon GM. Food safety objective: an integral part of food chain management. *Food Control*. 2005;16(9):801-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.020>.
- (85) Green LR, Selman CA, Radke V, et al. Food worker hand washing practices: an observation study. *J Food Prot*. 2006; 69(10):2417-23.
- (86) Griffith CJ, Malik R, Cooper RA, et al. Environmental surface cleanliness and the potential for contamination during handwashing. *Am J Infect Control*. 2003 Apr;31(2):93-6. <https://doi.org/10.1067/mic.2003.62>
- (87) Hansen TB1, Knöchel S. Image analysis method for evaluation of specific and non-specific hand contamination. *J Appl Microbiol*. 2003;94(3):483-94. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01855.x>
- (88) Health Protection Agency (HPA). Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods placed on the market. November 2009.
- (89) Henroid D Jr, Sneed J. Readiness to implement Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) systems in Iowa schools. *J Am Diet Assoc*. 2004;104(2):180-5. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2003.11.009>
- (90) Hilton AC, Austin E. The kitchen dishcloth as a source of and vehicle for foodborne pathogens in a domestic setting. *Int J Environ Health Res*. 2000;10(3):257-61. <https://doi.org/10.1080/09603120050127202>
- (91) Institute of Food Science and Technology (IFST). Development and use of microbiological criteria for foods. *Food Sci. Technol Today*.1997;11(3):137-76.
- (92) Institute of Medicine and National Research Council. An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients. Washington, DC: The National Academies Press,1985. <https://doi.org/10.17226/372>
- (93) Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF). Guia simplificado para a compreensão e uso de Objetivos de Inocuidade de Alimentos (FSO) e Objetivos de Desempenho (PO), 2006. <http://www.icmsf.org/wp-content/uploads/2018/02/GuiaSimplificadoPO.pdf>
- (94) International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). *Microrganisms in Foods 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance*. New York : Springer. 2011.
- (95) Ismaïl R, Aviat F, Michel V, et al. Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: a review of the literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(11):6169-83. <https://doi.org/10.3390/ijerph10116169>.
- (96) ISO 18593:2018. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.
- (97) ISO 7218:2007/Amd 1:2013 Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations.
- (98) ISO/TS 17728:2015 Microbiology of the food chain- Sampling techniques for microbiological analysis of food and feed samples.
- (99) Jacxsens L, Uyttendaele M, Devlieghere F, et al. Food safety performance indicators to benchmark food safety output of food safety management systems. *Int J Food Microbiol*. 2010;141 Suppl 1:S180-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.05.003>
- (100) Jacxsens L, Kussaga J, Luning PA, et al. A Microbial Assessment Scheme to measure microbial performance of Food Safety Management Systems. *Int J Food Microbiol*. 2009;134(1-2):113-25. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.018>
- (101) Jay JM. *Modern Food Microbiology*. 5th ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.
- (102) Jouve, JL. *La qualité microbiologique des aliments: maîtrise et critères*. 2e éd. Paris: Polytechnica (éditeur), 1996. <http://www.bdsp.ehesp.fr/Base/127115/>
- (103) Jumaa PA. Hand hygiene: simple and complex. *Int J Infect Dis*. 2005;9(1):3-14. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2004.05.005>
- (104) Lahou E, Jacxsens L, Daelman J, et al. Microbiological performance of a food safety management system in a food service operation. *J Food Prot*. 2012;75(4):706-16. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-260>
- (105) Lahou E, Jacxsens L, Daelman J, et al. Development of a horizontal MAS and a vertical MAS for institutional catering to measure microbiological performance of the food safety management system. 16th Conference Food Microbiology 2011: abstracts, p. 126.
- (106) Aa L, Is H, Jh D, et al. Bacterial contamination of the hands of food handlers as indicator of hand washing efficacy in some convenient food industries in South Africa. *Pak J Med Sci*. 2014;30(4):755-8. <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.304.4400>
- (107) Legnani P, Leoni E, Berveglieri M, et al. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*. 2004;15(3):205-211. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00048-3)
- (108) Little C, Sagoo S. Evaluation of the hygiene of ready-to-eat food preparation areas and practices in mobile food vendors in the UK, *Int J Environ Health Res*. 2009;19(6):431-43. <https://doi.org/10.1080/09603120903079364>

- (109) Lues JFR, Van Tonder I. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group, *Food Control*. 2007;18(4):326-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.10.010>
- (110) Lund BM, Baird-Parker TC, Gould GW. *The microbiological safety and quality of food*. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, 2000.
- (111) Luning PA, Jacksens L, Rovira J, et al. A concurrent diagnosis of microbiological food safety output and food safety management system performance: cases from meat processing industries. *Food Control*. 2011;22(3-4):555-65. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.003>
- (112) Maia C, Barreira MJ, Coelho A, et al. Presença de *Listeria monocytogenes* em estabelecimentos de restauração coletiva, da região de Lisboa e Vale do Tejo. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2015;4(Supl 5):18-21. <http://repositorio.insa.pt//handle/10400.18/3011>
- (113) Cole M. Food safety objectives – Concept and current status. *Mitt Lebensm Hyg*. 2004;95:13-20. [http://www.icmsf.org/wp-content/uploads/2018/02/013-020\\_Cole.pdf](http://www.icmsf.org/wp-content/uploads/2018/02/013-020_Cole.pdf)
- (114) Marzano MA. *Food safety in conventional and innovative catering systems*. Doctoral program in animal nutrition and food safety, Graduate school of veterinary sciences for animal health and food safety, Università degli Studi di Milano, 2010.
- (115) Microgen Bioproducts Ltd. *A guide to environmental microbiological testing for the food industry*. Camberley, UK: Microgen, 2008. [http://microgenbioproducts.com/wp-content/uploads/sites/8/2016/02/Path-Chek-Guide-to-Environmental-Monitoring\\_09.05.08-\\_9\\_.pdf](http://microgenbioproducts.com/wp-content/uploads/sites/8/2016/02/Path-Chek-Guide-to-Environmental-Monitoring_09.05.08-_9_.pdf)
- (116) Montville R, Chen Y, Schaffner DW. Risk assessment of hand washing efficacy using literature and experimental data. *Int J Food Microbiol*. 2002;73(2-3):305-13. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00666-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00666-3)
- (117) Montville R, Schaffner DW. Inoculum size influences bacterial cross contamination between surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(12):7188-93. <http://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7188-7193.2003>
- (118) Moore G, Griffith C. Problems associated with traditional hygiene swabbing: the need for in-house standardization. *J Appl Microbiol*. 2007;103(4):1090-103. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03330.x>
- (119) Mossel DAA, Jansen JT, Struijk CB. Microbiological safety assurance applied to smaller catering operations worldwide. From angst through ardour to assistance and achievement: the facts. *Food Control*. 1999;10(3):195-211. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(99\)00019-5](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(99)00019-5)
- (120) Muscolino D, Giarratana F, Beninati C, et al. Hygienic-sanitary evaluation of sushi and sashimi sold in Messina and Catania, Italy. *Ital J Food Saf*. 2014;3(2):1701. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2014.1701>
- (121) National Disease Surveillance Centre (NDSC). *Preventing foodborne disease: a focus on the infected food handler*. Dublin: NDSC, 2014. <http://hdl.handle.net/10147/45140>
- (122) National Research Council (US) Subcommittee on Microbiological Criteria. *An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients*. Washington, DC: National Academies Press (US), 1985. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK216682/>
- (123) Nauta MJ, Fischer ARH, Asselt ED, et al. Food safety in the domestic environment: the effect of consumer risk information on human disease risks. *Risk Analysis*. 2008;28(1):179-92. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2008.01012.x>
- (124) Nestlé Ltd. *Microbiological specifications*. Vevey (Switzerland), Nestlé, 2014. <https://www.nestle.com/asset-library/documents/library/documents/suppliers/microbiological-specifications-nestle.pdf>
- (125) NP EN ISO/IEC 17025:2005. *Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração*.
- (126) Nyenje ME, Odjadjare CE, Tanih NF, et al. Foodborne pathogens recovered from ready-to-eat foods from roadside cafeterias and retail outlets in Alice, Eastern Cape Province, South Africa: public health implications. *Int J Environ Res Public Health*. 2012;9(8):2608-19. <https://doi.org/10.3390/ijerph9082608>
- (127) Olsen SJ, MacKinnon LC, Goulding JS, et al. Surveillance for foodborne-disease outbreaks-United States, 1993-1997. *MMWR CDC Surveill Summ*. 2000;49(1):1-62. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss4901a1.htm>
- (128) Okareh OT, Erhahon OO. Microbiological assessment of food and hand-swabs samples of school food vendors in Benin City, Nigeria. *Food and Public Health* 2015;5(1):23-8. <http://article.sapub.org/10.5923.j.fph.20150501.04.html>
- (129) Ontario Agency for Health Protection and Promotion (Public Health Ontario). *Public health inspector's guide to the principles and practices of environmental microbiology*. 4th ed. Toronto, ON: Queen's Printer for Ontario, 2013.
- (130) Organização Mundial da Saúde (OMS); Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), colab. ; Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), trad. *Preparação, manipulação e conservação de fórmulas desidratadas para lactentes : manual de boas práticas*. Lisboa: INSA IP, 2015. <http://repositorio.insa.pt//handle/10400.18/3006>
- (131) Orion Diagnostica. *A guide to monitoring surface hygiene*. Pori, Finland: Orion Corporation, 2002. <http://www.lifesignmed.com/sites/default/files/Hygicult%20Guide%20to%20Monitoring%20Cleanliness.pdf>
- (132) Pablos B, Moragas M. *Normas microbiológicas de dos alimentos y asimilados (superficies, aguas diferentes de consumo, aire, subproductos) outros parámetros físico-químicos de interés sanitario (actualizada a 1 enero de 2017)*.
- (133) Pérez-Rodriguez F, Valero A, Carrasco E, et al. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends Food Sci Technol*. 2008;19(3):131-44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.08.003>
- (134) Pietrzak E. Guidelines for the general cleanliness of food - an overview. In: *Health Products and Food Branch (HPFB) of Health Canada. The Compendium of Analytical Methods - Volume 1*, 2009. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/research-programs-analytical-methods/analytical-methods/compendium-methods.html>
- (135) Pinto AH, Ávila H. Os desafios da restauração colectiva e o nutricionista como impulsionador do seu desenvolvimento. *Acta Port Nutrição*. 2015;2:22-32. <http://actaportuguesadenutricao.pt/wp-content/uploads/2017/01/n02a04.pdf>

- (136) Portaria nº 162/2012 de 22 de maio. DR 1ª Série, nº 99:2679-83. Aprova a orgânica do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I. P. <http://data.dre.pt/eli/port/162/2012/05/22/p/dre/pt/html>
- (137) Pothakos V, Samapundo S, Devlieghere F. Total mesophilic counts underestimate in many cases the contamination levels of psychrotrophic lactic acid bacteria (LAB) in chilled-stored food products at the end of their shelf-life. *Food Microbiol.* 2012;32(2):437-43. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.07.011>
- (138) Public Health Agency of Canada (PHAC). Hand hygiene practices in healthcare settings. Ottawa, Ontario: PHAC, 2012. <http://publications.gc.ca/pub?id=9.696715&sl=0>
- (139) Public Health England (PHE). Detection and enumeration of bacteria in swabs and other environmental samples *Microbiology*, 2014 (updated 20 November 2017). <http://www.hpa.org.uk/ProductsServices/MicrobiologyPathology/SpecialistMicrobiologyServices/FoodWaterEnvironmentalMicrobiologyServices/NationalReferenceLaboratoryForFoodMicrobiology/>
- (140) Public Health England (PHE). Examining food, water and environmental samples from healthcare environments, 2013. [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/446981/Hospital\\_F\\_W\\_E\\_Microbiology\\_Guidelines\\_PHE\\_format\\_June\\_2013.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/446981/Hospital_F_W_E_Microbiology_Guidelines_PHE_format_June_2013.pdf)
- (141) Regulation on Turkish food codex microbiological criteria. Law of authorization 5996. Official Gazette of Publication 29.12.2011-28157. [https://www.tarimorman.gov.tr/Belgeler/ENG/Legislation/regulation\\_microbiological\\_criteria.pdf](https://www.tarimorman.gov.tr/Belgeler/ENG/Legislation/regulation_microbiological_criteria.pdf)
- (142) Requasud. Guide pratique de microbiologie alimentaire à l'usage des producteurs. Gembloux, Belgium, 2013. [http://www.requasud.be/wp-content/uploads/2017/07/brochure\\_requasud\\_microbio.pdf](http://www.requasud.be/wp-content/uploads/2017/07/brochure_requasud_microbio.pdf)
- (143) Ribeiro AMR. Padrões bacteriológicos de alimentos portugueses. *Rev. Microbiol. (S. Paulo)*. 1974;5(1):17-26.
- (144) Roberts D, Greenwood M (eds). *Practical Food Microbiology*. 3rd ed. Massachusetts, US: Blackwell Publishing Ltd, 2003.
- (145) Sagoo SK, Little CL, Griffith CJ, et al. Study of cleaning standards and practices in food premises in the United Kingdom. *Commun Dis Public Health*. 2003;6(1):6-17.
- (146) Salo S, Alanko T, Sjöberg AM, et al. Validation of the hygicult e dipslides method in surface hygiene control: a nordic collaborative study. *J AOAC Int.* 2002;85(2):388-94.
- (147) Santos MI, Correia C, Campos Cunha MI, et al. Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista Ordem Dos Farmacêuticos*. 2005;64:66-8.
- (148) Saraiva M. Avaliação microbiológica do estado higiénico de mãos ou mãos com luvas. Comunicação oral, 7ª Reunião Nacional do PNAEQ em Microbiologia de Alimentos, 2008. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5608>
- (149) Saraiva M, Correia CB, Cunha IC, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, 2016. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2018 janeiro-abril;7(21):24-28. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5551>
- (150) Sneed J, Strohbehn C, Gilmore SA, et al. Microbiological evaluation of foodservice contact surfaces in Iowa assisted living facilities. *J Am Diet Assoc.* 2004;104(11):1722-4. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2004.08.026>
- (151) Ministère de la Santé. Le Gouvernement du Grand-Duché de Luxembourg, Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires: lignes directrices pour l'interprétation, Novembre 2015. [http://securite-alimentaire.public.lu/professionnel/Denrees-alimentaires/Qualite-microbiologique/recueil\\_criteres\\_microbiologiques/recueil\\_criteres\\_microbiologiques.pdf](http://securite-alimentaire.public.lu/professionnel/Denrees-alimentaires/Qualite-microbiologique/recueil_criteres_microbiologiques/recueil_criteres_microbiologiques.pdf)
- (152) Sickbert-Bennett EE, Weber DJ, Gergen-Teague MF, et al. Comparative efficacy of hand hygiene agents in the reduction of bacteria and viruses. *Am J Infect Control*. 2005;33(2):67-77. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2004.08.005>
- (153) Sospedra I, Rubert J, Soriano JM, et al. Survey of microbial quality of plant-based foods served in restaurants. *Food Control*. 2013;30(2):418-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.08.004>
- (154) SciCom. Advice 27-2007 - Action limits of microbiological contaminants; more specific *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, toxins of *Staphylococcus aureus* and toxins of *Bacillus cereus*. <http://www.afsca.be/scientificcommittee/opinions/2007/>
- (155) SciCom. Advice 10-2012 - The evaluation of the document "Action limits for microbiological contaminants in food" (dossier Sci Com 2011/21). <http://www.afsca.be/scientificcommittee/opinions/2012/>
- (156) Conseil Supérieur de la Santé. Recommandations relatives à la problématique de la listériose chez les groupes cibles spécifiques et fragiles: avis conjoint du Conseil Supérieur de la Santé et du Comité Scientifique de l'AFSCA, 2016. [https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth\\_theme\\_file/9311\\_avis\\_listeria\\_a5pdt.pdf](https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/9311_avis_listeria_a5pdt.pdf)
- (157) Sousa A, Bonito CC, Sousa I, et al. Challenge tests para avaliar o período de vida útil secundário em fiambre fatiado pré-embalado. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2016;5(Supl 8):52-5. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4134>
- (158) Sousa IS, Bonito CC, Toscano MM, et al. Monitorização microbiológica em produtos de charcutaria cozidos, fatiados em talhos. *Boletim Epidemiológico Observações*. 2016;5(Supl 8):49-51. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4133>
- (159) Tan SL, Lee HY, Abu Bakar F, et al. Microbiological quality on food handlers' hands at primary schools in Hulu Langat District, Malaysia. *Int Food Res J*. 2013;20(5):2973-77. [http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20\(05\)%202013/60%20IFRJ%2020%20\(05\)%202013%20Tan%20061.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/20%20(05)%202013/60%20IFRJ%2020%20(05)%202013%20Tan%20061.pdf)
- (160) Tasmanian Infection Prevention and Control Unit (TIPCU). Evaluating environmental cleanliness in hospitals and other healthcare settings. What are the most effective and efficient methods to use, 2012. [https://www.dhhs.tas.gov.au/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0006/92481/TIPCU\\_Environmental\\_Hygiene\\_Assessment\\_Report\\_2012.pdf](https://www.dhhs.tas.gov.au/__data/assets/pdf_file/0006/92481/TIPCU_Environmental_Hygiene_Assessment_Report_2012.pdf)
- (161) Tebbutt G, Bell V, Aislabie J. Verification of cleaning efficiency and its possible role in programmed hygiene inspections of food businesses undertaken by local authority officers. *J Appl Microbiol.* 2007;102(4):1010-7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03151.x>
- (162) The Acheson Group (TAG). Effective testing components of an environmental monitoring program, 2014. [http://foodsafety.neogen.com/pdf/whitepapers/tag-theachesongroup/tag\\_sanitationenvironmentalmonitoring\\_0414.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/whitepapers/tag-theachesongroup/tag_sanitationenvironmentalmonitoring_0414.pdf)

- (163) Toshima Y, Ojima M, Yamada H, et al. Observation of everyday hand-washing behavior of Japanese, and effects of antibacterial soap. *Int J Food Microbiol.* 2001;68(1-2):83-91. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00481-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00481-0)
- (164) U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: guidance for Industry, 2017. <https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/UCM535981.pdf>
- (165) Uyttendaele M (ed); De Loy-Hendrickx A, Vermeulen A, Jacobsens L, et al. Microbiological guidelines: support for interpretation of microbiological test results of foods. Brugge, Belgium: Die Keure, 2018.
- (166) Valero A, Ortiz JC, Fongaro G, et al. Definition of sampling procedures for collective-eating establishments based on the distribution of environmental microbiological contamination on food handlers, utensils and surfaces. *Food Control.* 2017;77(8):8-16. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.013>
- (167) Vaman AH; Evans MG. Foodborne pathogens: an illustrated text. London: Wolf Publishing Ltd., 1991
- (168) Van Schothorst M, Zwietering MH, Ross T, et al. Relating microbiological criteria to food safety objectives and performance objectives. *Food Control.* 2009;20(11):967-79. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.11.005>
- (169) Viegas S, Campos Cunha I, Correia CB, et al. Investigação laboratorial de toxinfecções alimentares, 2015. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2016;5(Supl 8):36-39. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/4130>
- (170) Viegas. S, Cunha IC, Correia CB, et al. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecções alimentares, 2014. *Boletim Epidemiológico Observações.* 2015;4(Supl 5):4-6. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/3007>
- (171) Whiting RC, Rainosek A, Buchanan RL, et al. Determining the microbiological criteria for lot rejection from the performance objective or food safety objective. *Int J Food Microbiol.* 2006;110(3):263-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.038>
- (172) Williamson K, Allen G, Bolton FJ. Report of the greater Manchester/ Lancashire /PHLS liaison group survey on the microbiological examination of meat/salad sandwiches from small retail premises, 2000.
- (173) Willis C, Elviss N, McLauchlin J. A follow-up study of hygiene in catering premises at large-scale events in the United Kingdom. *J Appl Microbiol.* 2015;118(1):222-32. <https://doi.org/10.1111/jam.12668>
- (174) Wirtanen G, Salo S. Microbial limits used for various types of food process surfaces based on case study evaluations. *J Hygienic Engineering and Design.* 2012;1:57-61. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133175023>
- (175) WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. Geneva: World Health Organization, 2009. <http://www.who.int/gpsc/5may/tools/9789241597906/en/>
- (176) WHO Surveillance Programme for control of foodborne infections and intoxications in Europe: eight report 1999-2000. Geneva: World Health Organization, 2003. <https://www.bfr.bund.de/internet/8threport/8threpmain.htm>







**Departamento de Alimentação e Nutrição**

Unidade de Referência

Laboratório de Microbiologia

**Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge**

Av. Padre Cruz

1649-016 Lisboa, Portugal

**Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira**

Rua Alexandre Herculano, n.321

4000-055 Porto, Portugal