



ESCOLA SUPERIOR DE
TECNOLOGIA DA SAÚDE
DE LISBOA



POLITÉCNICO
DE LISBOA

Instituto Politécnico de Lisboa

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

**Avaliação de Contaminantes Microbiológicos
potencialmente patogénicos em Mercarias da região
de Lisboa**

Mestranda: Delcy Julieta Delgado Vasconcelos dos Santos

Orientadores:

Prof^ª. Doutora Edna Soraia Gregório Ribeiro (ESTeSL, H&TRC)

Prof^ª. Doutora Marina Almeida Silva (ESTeSL, H&TRC)

Tese para obtenção do grau de
Mestre em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

Dezembro, 2022

Instituto Politécnico de Lisboa

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratórias

**Avaliação de Contaminantes Microbiológicos
potencialmente patogénicos em Mercarias da região
de Lisboa**

Mestranda: Delcy Julieta Delgado Vasconcelos dos Santos

Orientadores:

Prof^ª. Doutora Edna Soraia Gregório Ribeiro (ESTeSL, H&TRC)

Prof^ª. Doutora Marina Almeida Silva (ESTeSL, H&TRC)

Dezembro, 2022

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a minha orientadora Edna Ribeiro, pela paciência, disponibilidade, apoio, conselhos e por não ter desistido de mim. A sua ajuda foi fundamental, por sugerir-me este tema e ter ajudado de todas as formas, com o intuito de contribuir para o conhecimento científico.

A minha família, que sempre apoio-me no meio de tantos acontecimentos a realizar este mestrado, em especial ao meu filho que veio a este mundo para celebrar comigo esta conquista.

E a eu mesma, por ter muitas razões para desistir, mas não o fiz, tentei sempre dar o melhor de mim como mãe, trabalhadora e estudante. Este percurso não foi fácil, poderia ser melhor, mas acredito que todo o meu esforço valeu a pena.

A minha amiga e colega Simónica por estar do meu lado durante todo este processo, por ter-me apresentado este mestrado.

E as oportunidades da vida, mesmo no meio da pandemia de COVID 19, consegui fazer o meu mestrado a distância, comecei a trabalhar e gerei o meu primeiro filho, só tenho que agradecer a Deus por estas conquistas, acreditem não irei parar por aqui!!

Obrigada ☺

Ao longo da atividade profissional, os trabalhadores podem estar expostos, no seu ambiente de trabalho, a fatores que representam risco para a sua saúde caracterizando-se como risco ocupacional. No qual inclui o risco biológico, associados a agentes microbiológicos, como bactérias, fungos, vírus, endoparasitas entre outros, capazes de causar doenças graves e colocar em risco a saúde pública. Neste trabalho pretende-se avaliar contaminantes microbiológicos nomeadamente, bactérias potencialmente patogénicas incluindo *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA), *Escherichia coli*, outros coliformes, *Salmonella spp* e *Shigella spp.*, em ambientes de trabalho de contacto com a população nomeadamente em mercearias, o que pode representar um risco para os profissionais das mercearias e afetar toda comunidade.

Foram realizadas recolhas de amostras, através de métodos passivos (Zaragatoa de superfície) em três zonas de amostragem (armazém, zona de pagamento e zona de frutas) de 15 mercearias de Região de Lisboa. Para cada amostra foi inoculado 100 µl de suspensão em meios de cultura seletivos nomeadamente, CHROMagar MRSA, CHROMagar ECC e S.S. Modified Agar. Após 24h e 48h de incubação a 37°C foram contabilizadas as Unidades Formadoras de Colónias e avaliadas as UFC/ml.

Foi detetado a presença de MRSA, no qual contactou-se que 12 das 15 mercearias estavam contaminadas, no total 26 UFC/ml às 24h e 40 UFC/ml em 48h, sendo que a zona com maior prevalência de MRSA é a zona de frutas. Também foi detetado a presença de *E.coli*, em 3 das 15 mercearias, com foco na zona de pagamento no qual a M5 constatou-se incontáveis UFC/ml. As leituras efetuadas a outros coliformes não apresentaram divergências associadas ao tempo de leitura no total 14 UFC/ml, com apenas 2 das 15 mercearias contaminadas. Não foram detetadas amostras com *Salmonella spp* ou *Shigella spp.*

A presença de bactérias potencialmente patogénicas, demonstra a necessidade da realização de avaliações periódicas e eficientes de forma a reduzir o risco de exposição microbiológica para os trabalhadores e os frequentadores das mercearias.

Palavras-chaves: Risco biológico, Exposição ocupacional, Bactérias potencialmente patogénicas, Saúde pública.

Abstract

During the course of their professional activities, workers may be exposed, in their work environment, to factors that represent a risk to their health, which is characterized as occupational risk. This includes biological risk, associated with microbiological agents, such as bacteria, fungi, viruses, endoparasites, among others, capable of causing serious diseases and putting public health at risk. In this work, we intend to evaluate microbiological contaminants, namely, potentially pathogenic bacteria including Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, other coliforms, *Salmonella* spp. and *Shigella* spp., in work environments in contact with the population, which may represent a risk for grocery store professionals and affect the whole community.

Samples were collected, using passive methods (surface swabs) in three sampling areas (warehouse, payment area and fruit area) of 15 grocery stores in the Lisbon Region. For each sample, 100 µl of suspension was inoculated in selective culture media namely CHROMagar MRSA, CHROMagar ECC and S.S. Modified Agar. After 24h and 48h of incubation at 37°C, Colony Forming Units were counted and CFU/ml were evaluated.

The presence of MRSA was detected, in which 12 of the 15 grocery stores were found to be contaminated, with a total of 26 CFU/ml at 24h and 40 CFU/ml at 48h, and the area with the highest prevalence of MRSA was the fruit area. *E.coli* was also detected in 3 of the 15 grocery stores, with a focus on the payout zone in which M5 found countless CFU/ml. The readings for other coliforms showed no divergence associated with the reading time, totaling 14 CFU/ml, with only 2 of the 15 grocery stores contaminated. No samples were detected with *Salmonella* spp or *Shigella* spp.

The presence of potentially pathogenic bacteria demonstrates the need for periodic and efficient assessments to reduce the risk of microbiological exposure for grocery store workers and patrons.

Keywords: Biological risk, occupational exposure, potentially pathogenic bacteria, public health

Índice Geral

Agradecimentos.....	iii
Resumo	iv
Abstract.....	v
Índice Geral	vi
Índice de Gráficos.....	x
Índice de Figuras	xii
Abreviaturas.....	xv
1-Introdução.....	1
1.1-Problemática em estudo.....	1
1.2-Questão de investigação	2
1.3- Objetivos.....	2
1.3.1- Objetivo Geral.....	2
1.3.2 Objetivos Específicos.....	2
2-Revisão de Literatura	3
2.1-Risco ocupacional.....	3
2.1.1-Risco biológico	3
2.1.2- Bactérias.....	4
2.1.3- <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.1.4- <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Meticilina (MRSA).....	7
2.1.5- Enterobactérias.....	9
2.1.5.1-Grupo Coliformes	9
2.1.5.1.1- Coliformes Totais.....	10
2.1.5.1.2- Coliformes fecais ou termorregulares	10
2.1.5.2- <i>Escherichia coli</i>	11
2.1.6- <i>Salmonella</i> spp.....	12
2.1.7- <i>Shigella</i> pp.	14
2.2-Risco para a Saúde Pública	14
3-Materiais e métodos	17
3.1- Classificação do tipo do estudo	17
3.2- Local de estudo.....	17
3.3- Amostragem	17

3.3.1- Tipos de amostra.....	17
3.3.2- Técnica de amostragem passiva: Zaragatoas de superfície.....	17
3.4- Caracterização Microbiológica:.....	18
3.4.1 Zaragatoas de superfície e inoculação <i>in situ</i> para avaliação semi-quantitativa de bacterias em UFCs/ml.	18
3.4.2- Ágar MRSA Cromogênico (CHROMagar MRSA).....	18
3.4.3- CHROMagar ECC	19
3.4.4- S.S. Modified Agar	19
3.5 – Análise estatística	19
3.6 – Comparação dos resultados obtidos com resultados de referência “Valores-guia INSA”	20
3.7 – Questões éticas.....	20
3.8 – Financiamento.....	20
4-Resultados	21
4.1- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos no Armazém (24h e 48h)	21
4.2- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos na Zona de pagamento (24h e 48h)	22
4.3- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos nas Frutas (24h e 48h).....	23
4.4 – Análise de risco biológico por mercearias	24
4.5- Caracterização microbiológica do meio de cultura CHROMagar MRSA	25
4.5.1-Pesquisa de MRSA: Leitura 24h no Armazém.....	25
4.5.2- Pesquisa de MRSA: Leitura 48h Armazém.....	25
4.5.3- Pesquisa de MRSA: leitura 24h na Zona de Pagamento	26
4.5.4- Pesquisa de MRSA: Leitura 48h Zona de Pagamento.....	27
4.5.5- Pesquisa de MRSA: leitura 24h nas Frutas	27
4.5.6- Pesquisa de MRSA: leitura 48h nas Frutas	28
4.6- Caracterização microbiológica do meio de cultura CHROMagar ECC	29
4.6.1-Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 24h no Armazém.....	29
4.6.2- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 48h no Armazém.....	29
4.6.3-Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 24h na Zona de Pagamento...	30
4.6.4-Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 48h no Zona de Pagamento...	31
4.6.5-Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 24h nas Frutas	32

4.6.6-Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes: Leitura 48h nas Frutas	33
4.7- Caracterização microbiológica do meio de cultura SS Modified	34
5-Discussão.....	35
6-Conclusão	40
7-Referências Bibliográficas	42
9-Anexo	49
Anexo 1- Catálogo Frilabo do meio de cultura CHROMagar MRSA.....	49
Anexo 2- Catálogo Frilabo do meio de cultura CHROMagar ECC	49
Anexo 3 – Catálogo Oxoid™ Thermo Fisher™ do meio de cultura SS Modified....	50
Anexo 4- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA no armazém.	50
Anexo 5- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA no armazém.	51
Anexo 6- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA na zona de pagamento.	51
Anexo 7- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA na zona de pagamento.	52
Anexo 8- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA nas frutas.	52
Anexo 9- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA nas frutas.	53
Anexo 10- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC no armazém.....	53
Anexo 11- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC no armazém.....	54
Anexo 12- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC na zona de pagamento.	54
Anexo 13- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC na zona de pagamento.	55
Anexo 14- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC nas frutas.....	55
Anexo 15- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC nas frutas.....	56
Anexo 16- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified no armazém.....	56
Anexo 17- Tabela com leitura 48h do meio SS Modified no armazém.....	57
Anexo 18- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified na zona de pagamento.....	57
Anexo 19- Tabela com leitura 48h do meio SS Modified na zona de pagamento.....	58
Anexo 20- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified nas frutas.....	59
Anexo 21- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified nas frutas.....	59
Anexo 22- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados associados a Estafilococos coagulase positiva, <i>E.coli</i> patogénica em alimentos.....	60

Anexo 23- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados de coliformes como Enterobacteriaceae em alimentos (grupo/subgrupo2A).	61
Anexo 24- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados de coliformes como Enterobacteriaceae, Estafilococos coagulase positiva e <i>E.coli</i> em superfície (2A)......	61

Índice de Gráficos

Gráfico 1- Leitura 24h das amostras recolhidas no armazém das bactérias: MRSA, <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., e <i>Shigella</i> spp.(SS).....	21
Gráfico 2- Leitura 48h das amostras recolhidas no armazém das bactérias: MRSA, <i>E.coli</i> , outros coliformes e <i>Salmonella</i> spp. e <i>Shigella</i> spp. (SS).....	22
Gráfico 3-Leitura 24h das amostras recolhidas na zona de pagamento das bactérias: MRSA, <i>E. coli</i> , outros coliformes, <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. (SS).....	22
Gráfico 4- Leitura 48h das amostras recolhidas na zona de pagamento das bactérias: MRSA, <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., e <i>Shigella</i> spp. (SS).	23
Gráfico 5- Leitura 24h das amostras recolhidas nas frutas das bactérias: MRSA, <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., e <i>Shigella</i> spp. (SS).	23
Gráfico 6 - Leitura 48h das amostras recolhidas nas frutas das bactérias: MRSA, <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., e <i>Shigella</i> spp. (SS).	24
Gráfico 7- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA no Armazém na leitura de 24h.....	25
Gráfico 8- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA no Armazém na leitura de 48h.....	26
Gráfico 9- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de pagamento na leitura de 24h.....	26
Gráfico 10-Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na Zona de Pagamento na leitura de 48h.....	27
Gráfico 11-Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA nas frutas na leitura de 24h.	28
Gráfico 12- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de frutas na leitura de 48h.	29
Gráfico 13- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas no armazém leitura de 24h.....	30
Gráfico 14- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas na zona de pagamento na leitura de 24h.	32

Gráfico 15- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas na zona de pagamento na leitura de 24h.....	33
Gráfico 16- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas nas frutas na leitura de 24h.....	33
Gráfico 17- Pesquisa de <i>E. coli</i> e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas no armazém na leitura de 48h.....	33

Índice de Figuras

Figura 1-Percentagem (%) de resistência a Meticilina nos isolados invasivos de S.aureus na Europa, 2015. Adaptado: DGS, 2016.	8
--	---

Abreviaturas

CA-MRSA- Community-Acquired MRSA

CDC- Center for Disease Control and Preservation

E.coli- *Escherichia coli*.

HA-MRSA- Healthcare-Acquired MRSA

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

PBP- Proteína de Ligação à Penicilina;

UFC- Unidade formadoras de colônias

µm- Micrómetro

SPI- Salmonella Pathogenicity Island

WHO- World Health Organization

1-Introdução

Assegurar a segurança, saúde e bem-estar dos trabalhadores é indispensável para manutenção de ambientes de trabalho saudáveis. Entretanto, existem diversos fatores que atuam sobre o indivíduo no seu ambiente de trabalho, como a exposição a risco biológico (1)

Os agentes biológicos são microrganismos ubiqüitários, ou seja, podem estar em todos os ambientes que nos rodeiam, eles podem ser fungos, vírus, parasitas ou bactérias. Apenas uma pequena porção destes microrganismos pode provocar efeitos nocivos para os seres humanos, como reações alérgicas, infecções e reações tóxicas, representando o problema de saúde pública (2).

Este presente estudo foi desenvolvido em 15 mercearias da região de Lisboa, no qual os agentes selecionados para pesquisa são bactérias patogénicas, nomeadamente *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA), *Escherichia coli*, outros coliformes, *Salmonella spp.* e *Shigella spp.*

Estes microrganismos são responsáveis por várias patologias em humanos, pneumonia necrosante, diarreia do viajante, disenteria, intoxicação alimentar, vômito e febre (3,4,5,6,7,8). Podem ser transmitidos por ingestão de água e alimentos contaminados, mãos não higienizadas corretamente, condições sanitárias precárias, má higienização do local de trabalho, colocando em causa a saúde dos trabalhadores, e podem ser responsáveis por disseminação de doenças e por conseguinte pode gerar impactos negativos para a saúde pública (9).

Assim, a avaliação da presença de microrganismos contaminantes potencialmente patogénicos nas mercearias é de grande relevância.

1.1-Problemática em estudo

As bactérias fazem parte dos riscos biológicos no qual os trabalhadores podem estar expostos, apesar de alguns serem inofensivos outros podem ser potencialmente patogénicos e afetar negativamente a saúde dos trabalhadores e da saúde pública, bem como ocasionar problemas socioeconómicos (10).

MRSA, *E.coli*, outros coliformes, *Salmonella* spp. *Shigella* spp. são exemplos de bactérias potencialmente patogénicas, devido aos seus fatores de virulência e aos seus mecanismos de resistência a antibióticos é primordial a existência de técnicas e metodologias que permitam adquirir e desenvolver capacidades que possam incrementar os níveis de prevenção a essas bactérias (2,5,8,11,12, 13,14, 15,16, 17; 18,19).

Com este estudo pretende-se detetar a presença ou ausência das bactérias acima mencionadas, bem como o local mais contaminado entre as mercearias avaliadas. E com estes dados será possível potenciar a atuação sobre a cadeia de transmissão destes microrganismos (reservatório-fonte de exposição-hospedeiro (2)).

1.2-Questão de investigação

Poderão as mercearias da Região de Lisboa estar contaminadas por agentes microbiológicos potencialmente patogénicos?

1.3- Objetivos

1.3.1- Objetivo Geral

Avaliar a contaminação por MRSA, *E.coli*, outros coliformes, *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. de mercearias da região de Lisboa.

1.3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar e comparar o crescimento de microrganismos potencialmente patogénicos nas diferentes mercearias
- ✓ Observar potenciais variações de UFC/ml a 24h e 48 de incubação.
- ✓ Determinar qual/quais o(s) local(is) com maiores níveis de contaminação pelos diferentes agentes microbiológicos
- ✓ Avaliar o risco dos microrganismos isolados para a saúde dos trabalhadores
- ✓ Avaliar o risco dos microrganismos isolados para a saúde pública.

2.1-Risco ocupacional

Os trabalhadores, gastam em média, cerca de um terço de um dia no seu ambiente de trabalho, durante a rotina profissional, pode acontecer casos em que estes estejam expostos a situações que lhes apresentam um risco a saúde denominado de risco ocupacional, o qual inclui o risco físico, químico, biológico, ergonômico e acidental. Neste sentido é importante assegurar boas condições no ambiente de trabalho de forma minimizar os riscos, pois este é um fator importante para a determinação da saúde (21,22).

Com o intuito de salvaguardar os direitos dos trabalhadores existe Decreto-Lei n.º 102/2009 de 10 de Setembro, Regime jurídico da promoção da segurança e saúde no trabalho. A presente lei regulamenta o regime jurídico da promoção e prevenção da segurança e da saúde no trabalho, de acordo com o previsto no artigo 284.º do Código do Trabalho, no que respeita à prevenção (23).

Neste trabalho o foco é exposição ocupacional a riscos biológicos, mais concretamente bactérias.

2.1.1-Risco biológico

Um trabalhador pode ser infetado por um agente biológico ou estar exposto a toxinas produzidas pelo mesmo. Os agentes biológicos são ubíquos, ou seja, podem estar em todos os meios que nos rodeiam, nomeadamente no ar, nos alimentos, nos distintos produtos de consumo diário e no microbiota normal do corpo humano. Portanto são facilmente encontrados em muitos setores de trabalho. Fazem parte destes, bactérias, fungos, vírus e parasitas (endoparasitas) (2).

De modo promover e prevenir os trabalhadores existe a Diretiva n.º 93/88/CEE do Conselho, de 12 de Outubro, relativa à proteção dos trabalhadores contra os riscos ligados à exposição a agentes biológicos durante o trabalho (23).

Estes microrganismos possuem a capacidade de reproduzir, o que lhes tornam diferentes das demais substâncias perigosas. São raramente visíveis, replicam e difundem

rapidamente, porque uma vez que encontrem condições favoráveis, podem desenvolver-se rapidamente num curto período de tempo (9).

Dependendo da natureza da atividade que o trabalhador, a exposição a agentes biológicos pode ser intencional ou não intencional, de forma direta de pessoa para pessoa ou indireta de objetos, animais, ou vetores contaminados (24).

Uma dose mínima de exposição a estes agentes pode provocar diversas patologias, entre as quais, infeções, alergias, intoxicação entre outros problemas mais severos pneumonia necrosante, colite hemorrágica, septicemia, meningite, gastroenterite, hemorragias, morte. (5,8,9,17,25,26).

As principais vias de entrada no organismo no processo de contaminação biológica são a via cutânea ou percutânea (com ou sem lesão) através de mucosas, a via respiratória (aerossóis), via conjuntival e via digestiva (27).

2.1.2- Bactérias

As bactérias organismos microscópicos (1-20µm ou maior), unicelulares, denominados de procariotas (do grego “núcleo primitivo”), que possuem uma estrutura interna simples, reproduzem-se através de divisão assexuada, possuem algumas estruturas externas lhes conferem movimento e capacidade de fixação/adesão, denominados de flagelos e *pili*, todavia estes não possuem uma membrana delimitando o núcleo, a informação genética encontra-se disperso no citoplasma centrada numa região denominado de nucleóide, também possuem material genético em moléculas circulares denominadas de plasmócitos, possuem numerosos ribossomas e uma membrana plasmática envolvida por uma parede celular (5).

A parede celular é uma estrutura muito importante e complexa, porque garante a manutenção da forma da bactéria e protege-a, ela é composta por diferentes espessuras de peptidoglicano, um polímero que permite, através de uma coloração denominada Coloração de Gram, diferenciar e classificar as bactérias em dois grupos: Gram-positivo e Gram-negativo (5). A coloração de Gram, é baseada na composição química e física da parede celular, permitindo visualizar microscopicamente as características morfotintórias bacterianas. As bactérias Gram-positivas possuem uma parede celular com uma camada mais espessa de peptidoglicano e as bactérias Gram-negativas possuem uma camada mais fina e uma camada externa sobreposta (5,8).

Esta diferenciação é relevante para a identificação rápida e eficiente dos microrganismos presentes em amostras de forma a direcionar o tratamento mais adequando a cada tipo de situações (27). Para a classificação preliminar das bactérias é importante também saber a morfologia das bactérias (esferas, bastões, espiras) e arranjo espacial (podem estar isolados em cadeia, grupos), sendo que as propriedades genóticas e fenotípicas permitem a classificação definitiva (5).

Na microbiologia clássica, possível distinguir as bactérias baseado nas características de crescimento quando submetidos a diferentes meios de cultura. As bactérias crescem em colônias, cada colônia é um conjunto de bactérias que delas resulta as características coloniais tais como, forma, cheiro e tamanho (5).

Milhares de espécies de bactérias habitam o corpo humano, podem fazer parte da flora normal da pele, boca e nariz, algumas vivem em uma relação comensal permanente, outras são transitórias (5,29). No meio ambiente as bactérias podem ser encontradas em vários locais, no ar, água, plantas, animais, alimentos, solo, superfícies, ou seja no ambiente que nos rodeia (29). Muitos fatores favorecem o crescimento bacteriano, como a humidade, o calor, pH ideal e no ambiente interno o número de ocupantes e a atividade desenvolvida no espaço, bem como as condições sanitárias e de higienização afetam sensivelmente os níveis de concentração de bactérias (9). Existem bactérias não virulentas porém existem outras que são capazes de causar doenças que colocam a vida em perigo (potencialmente patogénicas) e ainda bactérias cuja presença está sempre associada a patogenicidade (29). A virulência bacteriana pode ser resultado dos efeitos tóxicos dos produtos bacterianos (toxinas) ou a capacidade de invadir fluidos e tecidos anatómicos que são, em geral estéreis (29).

As bactérias em estudo neste trabalho são: *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA), *Enterobacteriaceae* nomeadamente *Escherichia coli*, outros coliformes, *Salmonella spp* e *Shigella spp*.

2.1.3- *Staphylococcus aureus*

S. aureus são bactérias Gram-positivas pertencentes à família de *Micrococcaceae*, de forma esférica e normalmente encontram-se isolados ou agrupados em cachos, são imóveis, anaeróbios facultativos, não produtores de esporos (30).

Existem vários fatores de virulência associados a *S. aureus* entre eles: 1- Catalase positiva ou seja tem a capacidade de converter em água o peróxido de hidrogênio, que é um microbicida e ao ser destruído limita a ação dos neutrófilos. 2- Coagulase-positiva, a coagulase é uma enzima que desencadeia a coagulação do plasma, convertendo o fibrinogênio em fibrina. 3- Produz um pigmento carotenoide que confere a cor dourada a suas colônias, este auxilia na inativação do efeito microbicida de superóxidos no interior dos neutrófilos. 4- Hemólise de hemácias. 5- Contém plasmídeos que codificam os β -lactamase, enzima que degrada diversas penicilinas, o que lhes tornam resistentes a antibacterianos. 6- Produz várias toxinas (toxinas esfoliativas, enterotoxinas) e substâncias extracelulares como leucocidinas (que causa necrose da pele). 7- Formação de biofilme. 8- Capacidade de sobreviver dentro das células do hospedeiro. 9- Sequestra dos anticorpos do hospedeiro. 10- Presença de proteína A na parede celular que liga a região Fc das imunoglobulinas destabilizando a fagocitose e opsonização. 11- Consegue sobreviver em ambientes de “stress” como baixo pH, baixo oxigênio, temperaturas extremas e com pouco nutrientes. Estes e outros fatores de virulência dificultam a resposta imunitária do hospedeiro, e por sua vez dificulta o tratamento e pessoas com sistema imunitário reduzido ou uso prolongado de antibióticos são os mais propícios a desenvolver infecções por *S. aureus* (17,20, 31,32,33).

S.aureus pode ser encontrado na flora normal da pele, narinas e mucosas, de forma assintomática órgãos (14). A colonização ocorre principalmente através das mãos contaminadas, ingestão de alimentos contaminados e aerossóis (11,15,34).

Esta bactéria consegue penetrar no corpo humano através de eczemas causados por um ferimento ou uma cirurgia e quando ultrapassa essa barreira, *S.aureus*, pode causar abscessos e disseminar na corrente sanguínea originando infecções em vários órgãos. As principais patologias associadas a *S.aureus* são: Inflamação da pele e mucosas, bacteremia, pneumonia, meningites, osteomielite, piomiosite, septicemia, endocardite, síndrome de choque tóxico, síndrome de pele escaldada, infecções do trato urinário., artrite séptica (17,20, 35,36).

A intoxicação alimentar (gastroenterite) causada por *S.aureus* é uma das doenças mais comuns em todo o mundo, através de enterotoxinas estafilocócicas nos alimentos ingeridos (5).

2.1.4-Staphylococcus aureus resistente a Meticilina (MRSA)

A introdução de antimicrobianos para o tratamento de doenças humanas associados a microrganismos, foi sem dúvida uma das conquistas a nível de saúde pública mais significativa no século XX. O uso de antibióticos surgiu para controlar, prevenir e limitar a transmissão de doenças (38,39). Logo após, surgiram os primeiros casos de resistência aos antibióticos na década de 1930 e até os dias de hoje, este configura-se como um desafio global, associado a elevadas taxas de morbidade e mortalidade (40,41,42).

Desde a década de 1960, *Staphylococcus aureus* foi considerado uma das grandes preocupações a nível de saúde pública relacionadas a resistência aos antibióticos. Mais de 90% das linhagens de *S. aureus* possui uma enzima que degrada diversas penicilinas, mas não todas, denominado de β -lactamase, no qual ocorre alteração na proteína de ligação à penicilina (PBP) de sua membrana celular. Exemplos penicilinas resistentes à β -lactamase: meticilina, nafcilina, vancomicina, oxacilina (20,43,44).

MRSA é um dos principais agentes causadores de infecções nosocomiais nas quais o modo mais comum de transmissão deste microrganismo é através do contato próximo com profissionais de saúde com mãos e roupas contaminadas, através de pessoas infetadas e o ambiente inanimado contaminado (16,45).

Até os anos de 1980, as infecções associadas a MRSA foram consideradas como restritas aos ambientes hospitalares HA-MRSA (Healthcare-Acquired), até a ocorrência de evidências de cepas de origem comunitária CA-MRSA (Community-Acquired), segundo alguns autores, a estirpe propagada na comunidade provavelmente teve origem em estirpes de provenientes do ambiente hospitalar. Sugerindo a dispersão e a transmissão deste organismo em ambientes não hospitalares, causando infecções em pessoas saudáveis, sem exposição aos típicos fatores de riscos associados ao HA-MRSA (16,46,47).

Segundo CDC (Center of Disease Control), o MRSA é transmitido pela comunidade pela contato com coisas, mãos contaminadas e pessoas infetadas. Através do contato

direto com uma ferida contaminada ou de forma indireta por compartilhamento de itens contaminados que tocaram a pele infetada (12).

As principais infecções causadas por CA-MRSA aproximadamente em 90% dos casos, é: infecção de pele e partes moles, pneumonia necrosante, fasciite necrosante, estes quadros clínicos mais graves podem levar ao óbito nas primeiras 6 horas após o contacto com esta bactéria (3,4,48). A infecção por MRSA tem tido um grande impacto na saúde pública e para a economia devido ao seu elevado custo para os pacientes, hospitais devido o tratamento (49,50).

Atualmente CA-MRSA, continua sendo um dos grandes desafios a nível mundial, devido a sua rápida emergência (51), potencial de causar doenças (92) e aumento de prevalência (48,52,53,54).

Na europa a prevalência de MRSA (Figura 1), progride de norte para o sul, segundo os dados de vigilâncias os países do norte possuem cerca de 5 % (Holanda, Suécia, Dinamarca, Noruega) e os países do sul cerca de 25%-50% (Itália, Grécia, Portugal, Espanha) (16,55).

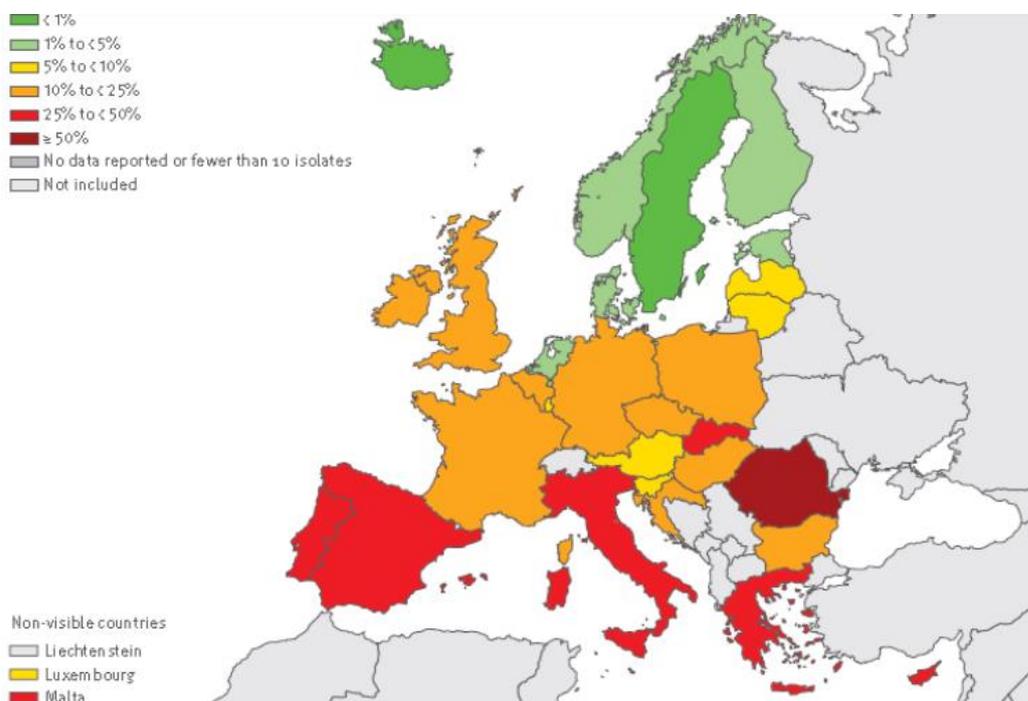


Figura 1-Percentagem (%) de resistência a Meticilina nos isolados invasivos de *S.aureus* na Europa, 2015. Adaptado: DGS, 2016.

Figura 1-Percentagem (%) de resistência a Meticilina nos isolados invasivos de *S.aureus* na Europa, 2015. Adaptado: DGS, 2016.

2.1.5- Enterobactérias

A família de enterobactérias (*Enterobacteriaceae*) é a maior e mais heterogêneo grupo dos bacilos Gram-negativos, nela pode-mos encontrar mais de 40 gêneros, centenas de espécies e milhares de sorotipos. A maioria possui flagelos, não produzem esporos, todos reduzem nitrato a nitrito, todos são anaeróbios facultativos, são oxidase negativo, catalase positivo. A nível mundial têm surgido estirpes resistentes aos antibióticos, o que confere uma certa preocupação para os sistemas de saúde (5,9,56).

É muito comum associar as enterobactérias às bactérias que habitam o trato intestinal humana e de outros vertebrados, porém é necessário realçar que estes bacilos são ubiqüitários, podendo estar presente no solo, nos alimentos e na água (6).

As enterobactérias são responsáveis por uma grande complexidade de casos clínicos, e infecções em vários órgãos. Dentro desta família existem os que causam doenças sempre quando presente em determinado órgão (por exemplo: *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Escherichia coli*), e existe os que apesar de fazerem parte da flora comensal normal de certos órgãos, pode causar infecções oportunistas (por ex: *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) (9,56,57).

Os principais casos clínicos associados as enterobactérias são infecções urinárias, septicemias, infecções gastro intestinais, meningites, pneumonia, infecções na corrente sanguínea. Os gêneros de enterobactérias de importância médica são *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Serratia* spp (8,57).

2.1.5.1-Grupo Coliformes

Os coliformes são bactérias Gram-negativas, em forma de bacilos (bastonetes), não produtores de esporos, aeróbios e ou anaeróbios facultativos, oxidase- negativo, capazes de fermentar a lactose com produção de ácido e gás. Este grupo inclui vários gêneros e espécies de bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, estes fazem parte do microbiota normal e têm como habitat natural o trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente, porém podem ser encontrados no meio ambiente em água,

alimentos, plantas, solo, excluindo a *E.coli* que tem como habitat principal o intestino grosso, sendo disseminada pelo ambiente através de fezes contaminadas. A quantificação do número de coliformes é um método mais usado para garantir a qualidade de águas e alimentos aferir as condições higiênicas. E presença destas bactérias são prova de contaminação orgânica, ambiental ou fecal (20,58).

Existem regulamentos rígidos para a presença de Coliformes e *E.coli* em amostras de água e alimentos, devido a sua relevância para a segurança hídrica e alimentar. A monitorização é fundamental visto que a elevada contaminação por estes microrganismos, pode levar à suspensão do abastecimento de água e recolhimento de alimentos nos supermercados (59).

Os seguintes géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* e *Klebsiella* fazem parte do grupo de Coliformes, que por sua vez encontra-se subdividido em Coliformes Totais, Coliformes Fecais ou termotolerantes e *E.coli*. (58).

2.1.5.1.1-Coliformes Totais

As bactérias do grupo Coliformes Totais incluem todos os coliformes capazes de fermentar a lactose com produção de gás e ácido, quando incubados numa temperatura de 35-37°C em 48h. Cerca de 20 espécies pertencem a este grupo, incluindo os géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, sendo que nem todos são de origem fecal, podendo ser também encontrados no meio ambiente. Neste sentido a ausência de coliformes totais quase anula a existência de contaminação fecal, porém a sua presença não implica contaminação fecal (20,60).

Segundo CDC (Center for Disease Control), a presença de coliformes totais em elevadas quantidades sugere que seja possível encontrar outros microrganismos nas amostras, como vírus, parasitas e outras bactérias nocivas (61).

2.5.5.1.2-Coliformes fecais ou termorregulares

Os coliformes fecais são capazes de continuarem a multiplicar e fermentar a lactose a temperatura de 44-45°C em 24-48h. Fazem parte deste grupo *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* Alguns autores sugerem que este grupo deveria denominar de Coliformes Termotolerantes pelo fato de existir alguns coliformes de que podem ter origem não fecal que conseguem multiplicar-se a estas temperaturas, como *Enterobacter* e *Klebsiella*. A *E. coli* é o principal representante deste grupo, restrito apenas ao intestino

de humanos e animais de sangue quente e a sua presença indica contaminação fecal direta ou indiretamente por contato com material de origem fecal (58).

2.1.5.2-*Escherichia coli*

As bactérias da espécie *E. coli* pertencem a família *Enterobacteriaceae*, possuem formato de bastonetes (bacilos) são anaeróbios facultativos, fermentadores da lactose, imóveis ou móveis por flagelos, oxidase negativo, catalase positiva, não produtores de esporos (62,63).

E.coli consegue crescer em temperaturas entre 7 e 46°C, sendo que o crescimento é mais favorável a uma temperatura de 37°C. O habitat principal é o trato intestinal humano e de outros animais de sangue quente. Alguns sorotipos de *E. coli* fazem parte da flora comensal do intestino, porém existem outros que são patogênicos para os humanos que não pertencem à flora comensal e a colonização em certos órgãos originam várias manifestações clínicas (8,63).

As infecções causadas por *E. coli* podem ocorrer através da via fecal-oral, por ingestão de água e alimentos contaminados. Por colonização de outros órgãos; Durante a passagem no canal de parto. As principais manifestações clínicas são: Infecção no trato urinário pela própria microbiota que coloniza o trato urinário (9), meningites neonatal, “diarreia do viajante” através da ingestão de alimentos e água contaminada por fezes humanas. Gastroenterite, septicemia, infecções intra-abdominais, pneumonia, cistite, entre outros (20,64).

Existe vários mecanismos de virulência, além dos partilhados com todos os membros da família *Enterobacteriaceae*. Possui alguns fatores de virulência específicos como adesinas e exotoxinas. (5,8).

E. coli possui três antígenos: o antígeno O, ou somático, antígeno H, ou flagelar, antígeno K, ou capsular, que são muito utilizados nas investigações epidemiológicas. Os vários sorotipos de *E. coli* são resultados das várias combinações entre os diferentes tipos antigênicos, pelo fato de existirem mais de 188 antígenos O, 56 H e 100 K. Estes sorotipos estão diretamente associados a determinadas doenças, como por exemplo: *E. coli* O157:H7 é a causa mais comum de *E.coli* enterohemorrágica (diarreia com sangue); O55 e O111 causam surtos de diarreia neonatal (20).

Dependendo dos vários mecanismos de patogenicidade, os vários tipos de *E.coli* foram classificadas em patótipos: EPEC (*E. coli* enteropatogênica - diarreia com muco e sangue), ETEC (*E. coli* enterotoxigênica - diarreia do viajante), EAEC (*E.coli* enteroagregativa- diarreia aquosa persistente), EHEC (*E.coli* enterohemorrágica- diarreia com sangue) EIEC (*E.coli* enteroinvasiva), entre outros (8).

No mundo de microbiologia a *E.coli* é considerada uma das bactérias mais estudadas, sabe-se muito sobre a sua composição bioquímica e a sua informação genética, acabando por ser muito útil na investigação biológica básica. E a sua presença é um indicador de contaminação fecal para avaliar a qualidade de água e alimentos (9,63,64).

2.1.6- *Salmonella* spp.

A *salmonella* spp são bastonetes Gram-negativo, da família *entreobacteriaceae*, geralmente possuem estruturas que lhes conferem mobilidade, capazes de fermentar o ácido sulfídrico (H₂S), não fermentadores da lactose, oxidase negativo, anaeróbios facultativos, não produtores de esporos (9).

Estes microrganismos habitam o intestino dos animais incluindo no humano, podem sobreviver num ambiente de baixo pH no estomago, são libertados no ambiente pelas fezes, contaminando o água e o solo. A sua transmissão é através da via fecal-oral, por ingestão de alimentos contaminados, sendo que consumo de carne das aves, ovos e produtos lácteos são as fontes de infeção mais comum. A salmonelose é um termo muito utilizado para descrever as infeções causadas por ingestão de alimentos contaminados de origem animal, classificado como a zoonose mais comum em todo o mundo (14,18,19).

A nomenclatura desta bactéria é complexa e está em constante evolução, sendo que a classificação taxonómica do género da *Salmonella* é subdividida em duas espécies *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A *S. enterica* é dividida em seis subespécies com base nas suas propriedades bioquímicas: (I) *S. enterica subspécie enterica*, (II) *S. enterica subspécie salamae*, (IIIa) *S. enterica arizonae*, (IIIb) *S. enterica subspécie diarizonae*, (IV) *S. enterica subspécie houtenae*, (VI) *S. enterica subspécie indica* (65). O género *Salmonella* inclui numerosos sorotipos, que segundo o esquema de Kauffmann-White a sorotipagem consistem em caracterização dos antígenos somáticos (O) e flagelares (H) (33). Apesar de existir um grande número de sorotipos, apenas um número restrito deles podem desencadear infeção em humanos e animais, o *S. bongori*

esporadicamente é isolada em humanos, sendo mais frequente em animais de sangue frio. Na prática clínica é importante distinguir a *S. typhi* dos restantes sorotipos de *Salmonella* (33).

As principais salmoneloses ocorridas em humanos são causadas pela *S. enterica* subespécie *enterica*. O grau de acomodação no hospedeiro depende de os sorotipos: 1) os sorotipos adaptado aos humanos, tais como *S. typhi*, *S. paratyphi A* e *S. sendai*. 2) Sorotipos ubíquos, tais como *S. typhimurium* podem afetar os humanos e os animais. 3) Os sorotipos adaptados em animais, tais como *S. Gallinarum* (66).

Os principais casos clínicos associado a esta bactéria são: Intoxicação alimentar; Vômitos; Diarreia; Gastroenterite; Quando a bactéria entra na corrente sanguínea pode provocar Septicemia, Meningite, Pneumonia, Febre tifoide ou febre paratifoide e pode ocorrer casos que a colonização é assintomática (5).

Tratamento: a maioria dos casos a doença é autolimitada porém o uso de antimicrobianos pode ser uma solução para os casos mais graves. Porém nos últimos anos, houve um aumento nas cepas de *Salmonella* spp, resistente a antibióticos, sendo que estes elementos genéticos relacionado à resistência podem ser transmitidos para outras bactérias entéricas e as cepas podem ser transmitidas em toda a cadeia alimentar (67).

Existe diversos fatores que conferem virulência a *Salmonella* spp. Nomeadamente os plasmídeos, toxina, fibrinas e flagelos e elementos genéticos. A maioria dos genes de virulência está localizada em regiões específicas do cromossoma bacteriano, denominadas ilhas de patogenicidade (*Salmonella* Pathogenicity Island-SPI) (14). Estes genes são responsáveis por invadir a célula hospedeira, até o momento já foram descritas doze SPI (18).

Algumas medidas simples e importantes podem ajudar a prevenir as doenças causadas por *Salmonella*: Uso de água tratada, lavar as mãos com frequência, higienizar bem os alimentos, evitar a ingestão de alimentos crus ou mal cozinhados, evitar comer ovos crus, armazenar de forma correta os alimentos, não consumir alimentos sem observar a sua validade, higienizar bem os utensílios utilizados na preparação das refeições etc (68).

A Salmonela é considerada um dos mais importantes problemas de segurança alimentar, tornando um problema de saúde pública com um impacto económico significativo, deste modo o controlo de surtos causados por esta bactéria é uma prioridade (37,66).

2.1.7-Shigella pp.

As espécies de *Shigella* pertencem a família das *entreobacteriaceae*, são bactérias Gram-negativas, em formato de bastonetes (bacilos), imóveis, anaeróbias facultativa, não fermentadores da lactose capazes de crescer numa temperatura entre 10 e 45°C, conseguem sobreviver em longos períodos de tempo em alimentos desidratados ou com pouca água. Esta bactéria é responsável por elevada carga de diarreia (enterocolite baciliar) a nível mundial. (1,25,69).

Faz parte do género *Shigella* spp. as seguintes espécies: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* e *S. sonnei*. Ambas as espécies são patogénicas para o Homem, distinguindo apenas no grau de severidade da infeção que podem causar (6,7). A shigelose é uma doença restrita apenas para os humanos, não há reservatório animal. O habitat da *Shigella* spp é o trato intestinal humano e a principal via de transmissão é a fecal-oral por ingestão de água e alimentos contaminados com fezes humanas, mãos contaminadas ou por moscas, muito associado as condições precárias de higienização. Os surtos transmitidos por alimentos são superiores aos surtos transmitidos pela água (1).

Qualquer pessoa está suspeito de contrair shigelose, no entanto, os idosos, crianças e indivíduos imunodeprimidos podem apresentar sintomas mais severos. Fazem parte das principais manifestações clínicas: dores abdominais, diarreia com muco, vómitos, febre, sangue nas fezes (disenteria), num período de tempo entre 3 a 14 dias. Alguns indivíduos continuam portadores assintomáticos da bactéria durante vários meses (18).

A principal forma de prevenção de modo evitar a contaminação por *Shigella* spp consiste em interromper o ciclo de transmissão fecal-oral através de em boa higiene pessoal, lavagem de mãos de forma adequada, tratamento do esgoto. (1,52).

2.2-Risco para a Saúde Pública

Um dos principais riscos a saúde pública é a transmissão de bactérias patogénicas através de águas e alimentos contaminados (29).

Em alguns países em desenvolvimento, as condições precárias de saneamento e do sistema público de abastecimento de água são formas de veiculação hídrica de várias doenças, incluindo diarreias, cólera, shigelose, salmonelose, febre tifoide, gastroenterite (70). Responsáveis por vários surtos epidêmicos e elevadas taxas de mortalidade infantil (20,70).

A contaminação de alimentos por *Salmonella spp.* é um grande problema a nível mundial, o mesmo não deve estar presente em produtos alimentícios pelo fato de causar graves intoxicações alimentares e de ser agente causador de surtos registrados em vários países. (37,71). No ano 2019 foram registrados 93,8 milhões de casos de doenças gastrointestinais causados por estirpes de *Salmonella* (71). Em semelhança, outros microrganismos como *E. coli*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, fazem parte dos principais causadores de doenças veiculadas por alimentos (72).

Essa diversidade de quadros clínicos causados por MRSA, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, muitas vezes requer terapia à base de antibióticos. Porém, uma das maiores ameaças para a saúde pública atualmente, é a resistência de microrganismos a antibióticos (73,74).

Prescrição inadequada de antibióticos, incertezas de no diagnóstico, não comprimento dos horários de administração dos antibióticos, automedicação, uso excessivo de antibióticos, entre outros, são ações que resultam na ineficiência dos antibióticos sobre agentes bacterianos (74,75)

Algumas bactérias adquiriram resistência como um mecanismo de sobrevivência, perante uma pressão seletiva do uso de antibióticos (74). A emergência e proliferação de resistência bacteriana a antibióticos é resultante de uma transmissão horizontal de genes de resistência através de elementos genéticos móveis, como plasmídeo, transposições e integrões, entre gêneros e espécies bacterianas, não patogênicos e patogênicos, entre vários hospedeiros e reservatórios ambientais (74).

Existe quatro principais mecanismos associados a resistência bacteriana: 1-Produção de enzimas β -lactamases, capazes de destruir e modificar antibióticos. 2- Prevenção da acumulação intracelular do antibiótico através da redução da permeabilidade celular ao antibiótico ou da existência de bombas de efluxo dos antibióticos das células bacterianas. 3- Alterações nas moléculas alvo dos antibióticos; 4- Produção de

moléculas alvo alternativas que não são inibidas pelo antibiótico, enquanto se continua a produzir as moléculas alvo originais, contornando desse modo a inibição pelo antibiótico (74).

Algumas bactérias multirresistentes já transcendem os limites nosocomiais estando associados a infeções comunitárias (74). Por consequente espalham entre vários continentes a uma velocidade notável, representando uma ameaça catastrófica para as pessoas á nível mundial, principalmente os imunocomprometidos (74).

Por conseguinte, gera impactos negativos para o sistema de saúde nomeadamente alta taxa de mobilidade e mortalidade, atraso no tratamento das infeções associadas, hospitalização prolongada. Implicando diretamente no desenvolvimento económico e na vida da população mundial (75).

Na europa, Portugal é considerado como um país com consumo elevado de antibióticos, apesar da diminuição de administração destes medicamentos nos últimos anos. Enquanto os países do norte da europa, têm menor consumo de antibióticos por consequente menor nível de resistência. (74).

Em semelhança do que acontece a nível mundial, em Portugal as bactérias mais resistentes aos antibióticos são: MRSA; *Streptococcus pneumoniae* resistentes à penicilina; *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL ou de carbapenemases; *Enterococcus* resistentes à vancomicina, e *P. aeruginosa* e *A. baumannii* resistentes aos carbapenemos (76).

S.aureus representa uma das bactérias Gram-positivas mais resistentes a antibióticos um grande exemplo é *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), bactéria resistente a meticilina, usado para combater infeções causadas por estafilococos (59, 12). Enquanto espécies da família *Enterobacteriaceae* são exemplos de bactérias Gram-negativas mais resistentes a antibióticos (74).

3-Materiais e métodos

3.1- Classificação do tipo do estudo

-Observacional, porque não sofre qualquer manipulação do investigador, limitando-se apenas em observar, analisar e interpretar.

-Descritivo-correlacional, visto que pretendeu-se descrever a presença ou ausência das bactérias e associá-la com a contaminação ocupacional.

-Metodologia quantitativa, baseada em variáveis que podem ser quantificados, na presença de crescimento de bacteriano foi possível contar o número de colónias, que foram analisadas de modo estatístico.

-Quantitativo, em relação à obtenção e tratamento de dados, porque os dados gerados apresentam-se em números que podem ser quantificados e comprovar o objetivo geral.

3.2- Local de estudo

O presente trabalho de investigação foi desenvolvido em 15 (quinze) mercearias da região de Lisboa, por questões éticas de manutenção de anonimato foram atribuídos códigos de identificação de M1 à M15.

3.3- Amostragem

3.3.1- Tipos de amostra

Quanto a natureza da amostra em estudo, considera-se este como amostras ambientais (de superfície), recolhidas em três pontos: (1) Armazém, (2) Zona de pagamento e (3) Zona das Frutas.

3.3.2- Técnica de amostragem passiva: Zaragatoas de superfície

Recentemente, o uso de amostradores passivos, tem sido muito utilizado, pelas suas vantagens, nomeadamente o baixo custo, fácil manuseio, fácil transporte e bom desempenho no que se refere a sensibilidade e reprodutibilidade (77,78).

Neste trabalho, a metodologia aplicada foi amostragem passiva utilizando zaragatoa de superfície. A área de amostragem foi delimitada com estêncil quadrado estéril de 10cm x10cm (equivalente a 100 cm²), posteriormente foi recolhido as amostras, em locais considerados de alto risco de contaminação, particularmente associado a atividade dos

profissionais e em alimentos. Foram utilizadas 2 (duas) zaragoas por cada ponto de amostragem, de forma a permitir a quantificação de microrganismos, identificar fontes de contaminação, aferir a eficácia dos procedimentos de limpeza e desinfecção (79).

Ambas as duas zaragoas por cada ponto de amostragem foram consideradas como parte de uma só amostra, com intuito garantir a precisão quantitativa dos possíveis microrganismos nas amostras recolhidas.

3.4- Caracterização Microbiológica:

3.4.1 Zaragoas de superfície e inoculação *in situ* para avaliação semi-quantitativa de bactérias em UFCs/ml.

Após amostragem das superfícies, as duas zaragoas por cada ponto de recolha, foram imediatamente transferidos para um falcão com 1 ml de solução salina estéril. A suspensão resultante (100 µl cada) foi inoculada em meios de cultura seletivos para avaliação da resistência à metilina de *Staphylococcus aureus* (MRSA), *E. coli* e outros coliformes e também *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* Os meios utilizados foram Cromogenic MRSA, CHROMagar ECC e S.S. Modified Agar, respectivamente. Após, 24h e 48h de incubação a 37°C os UFCs foram contados e os resultados foram traduzidos em UFCs / ml.

3.4.2- Ágar MRSA Cromogênico (CHROMagar MRSA)

O CHROMagar MRSA é um meio seletivo e diferencial que permite o isolamento de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), este meio possui algumas propriedades como: rápido crescimento das colônias de MRSA em 18h-24h; Confiável, foi o primeiro meio cromogênico fabricado para deteção de MRSA, contribuindo significativamente para a redução no tempo de resposta dos resultados e a carga de trabalho nos laboratórios; Alta sensibilidade, valores próximos a 100% representa a especificidade e a sensibilidade deste meio; Fácil interpretação (80) (Anexo 1).

Interpretação dos possíveis resultados após uso deste meio:

- *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA): cor rosa a malva intenso;
- *Staphylococcus aureus* sensível à metilina (MSSA): inibido;
- Outras bactérias: incolor, azul ou inibida;

3.4.3- CHROMagar ECC

Este meio de cultura permite a detecção e contagem simultânea de *E.coli* e outros coliformes em amostras provenientes dos alimentos ou água, sendo um meio excelente para monitorar fontes de contaminação além de possuir algumas propriedades como: Detecção e enumeração simultânea de *E. coli* e outros coliformes, auxiliando na determinação se a origem da contaminação é fecal (*E.coli*) ou orgânica (coliformes); Fácil leitura: O contraste das cores entre as colônia, não há sobreposição das cores o que facilita a distinção de *E.coli* dos outros coliformes (59) (Anexo 2).

Interpretação dos resultados após uso deste meio (24h):

-*E. coli*: azul.

-Outros coliformes: malva.

-Outras bactérias: ausentes ou incolor.

3.4.4- S.S. Modified Agar

O S.S. Modified Agar é um meio seletivo para o crescimento e diferenciação das espécies de *Salmonella* e *Shigelas*, muito útil no uso de amostras suspeitas de abrigar estas bactérias, desde alimentos, objetos, água ou amostras patológicas. Conta com algumas propriedades como: Fácil de leitura e Seletivo, pois possui alguns componentes que inibe o crescimento de outras bactérias Gram-positivas e coliformes não-alvo, como verde brilhante, sais biliares, tiosulfato e citrato (65) (Anexo 3).

Interpretação dos resultados após uso deste meio (24h):

- *Salmonella spp*: Colônias transparentes com centro preto

-*Shigella spp*: Colônia transparentes.

3.5 – Análise estatística

O tratamento dos dados e os gráficos foram realizados na Microsoft Excel®. Foi realizada estatística descritiva.

3.6 – Comparação dos resultados obtidos com resultados de referência “Valores-guia INSA”

Os resultados obtidos foram comparados com valores referência presente no “Valores-guia INSA”, que é um instrumento que permite facilitar a interpretação dos resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo ou em superfície do ambiente de preparação e distribuição alimentar. Dependendo da zona, tipo de superfície e fase em que se aplica assim temos o valor máximo admissível para presença certos microrganismos a 30°, *Enterobacteriaceae*, *E.coli* e estafilococos coagula-se positiva. Neste estudo as zonas de amostragem enquadram-se na zona 2A, ou seja, 2 porque contata com o recipiente que contém alimentos prontos para o consumo e A porque no decurso da laboração (81).

Tendo em conta que o ponto de amostragem - frutas, trata-se de um alimento, os resultados obtidos referente a este local foram analisadas de duas formas: 1- Análise comparativa com os valores de referência como superfície externa das frutas, sendo comparado como categoria de alimentos 3 na superfície 1B dos valores-guia INSA; 2- Análise comparativa dos valores de referência considerando as futas como alimento contaminado do modo geral, sendo comparado como membro do grupo 3 e subgrupo A dos valores-guia INSA (81).

3.7 – Questões éticas

Este trabalho não envolve questões ético-legais, uma vez que as amostras são ambientais (superfícies). Em todas as mercearias analisadas foi solicitada autorização por escrito dos proprietários, onde é dado conhecimento de todos os procedimentos e objetivos do projeto. De forma a manter o anonimato das mercearias, as amostras foram ainda codificadas.

3.8 – Financiamento

O estudo decorreu no Centro de Investigação em Saúde e Tecnologia - H&TRC, localizado na Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa do Instituto Politécnico de Lisboa. O H&TRC agradece o apoio da FCT/MCTES através das UIDB/05608/2020 e UIDP/05608/2020.

4-Resultados

Neste estudo, todos os extratos das amostras foram inoculadas nos diferentes meios de cultura e colocadas na estufa 37°C, foi feito a leitura 24h e 48h, de modo caracterizar o crescimento bacteriano nas três superfícies de amostragem com 100cm² cada.

Os dados foram tratados no Excel, no qual foi possível elaborar gráficos em colunas. A caracterização microbiológica irá ser apresentada consoante a leitura 24h e 48h dos diferentes microrganismos de estudo nos diferentes locais de amostragem.

Os resultados representados em gráficos podem ser comparados com as tabelas com resultados detalhados que encontram-se em anexo (4-21).

4.1- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogénicos no Armazém (24h e 48h)

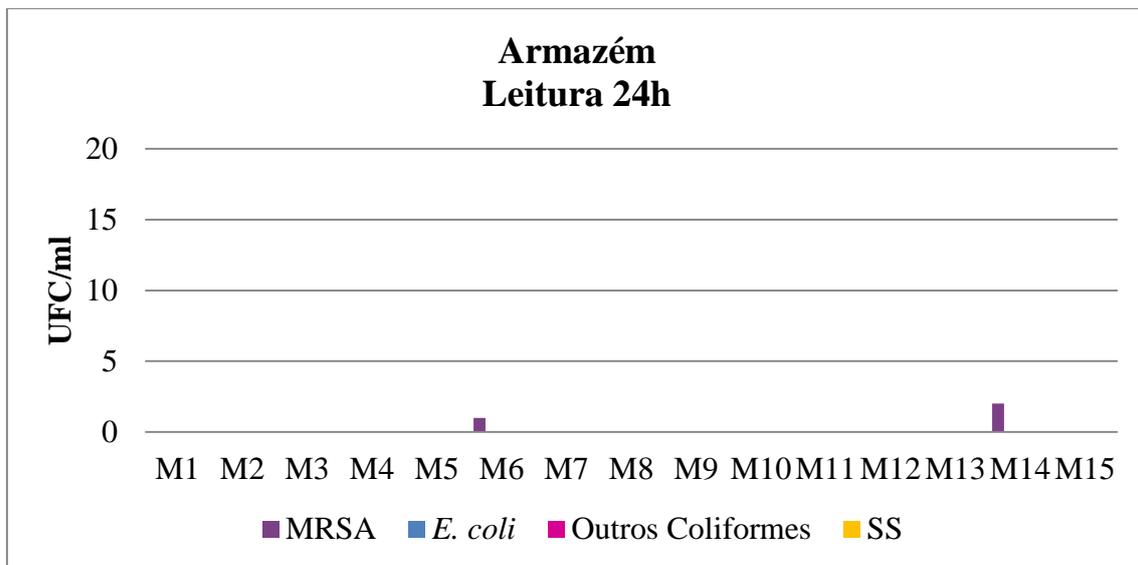


Gráfico 1- Leitura 24h das amostras recolhidas no armazém das bactérias: MRSA, E.coli, Salmonella spp., e Shigella spp.(SS).

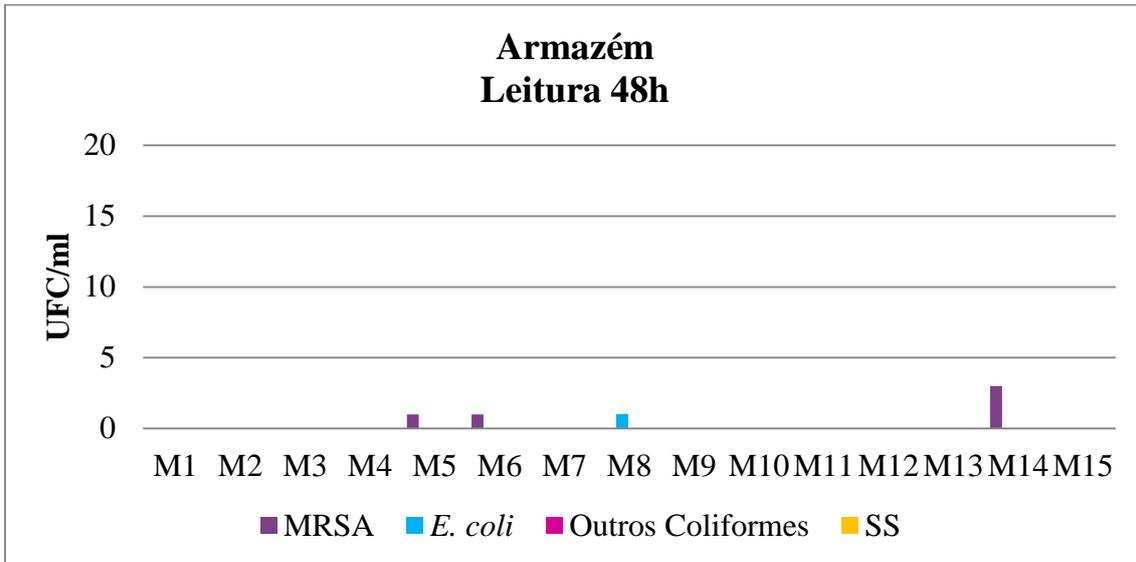


Gráfico 2- Leitura 48h das amostras recolhidas no armazém das bactérias: MRSA, *E.coli*, outros coliformes e *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. (SS).

4.2- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogénicos na Zona de pagamento (24h e 48h)

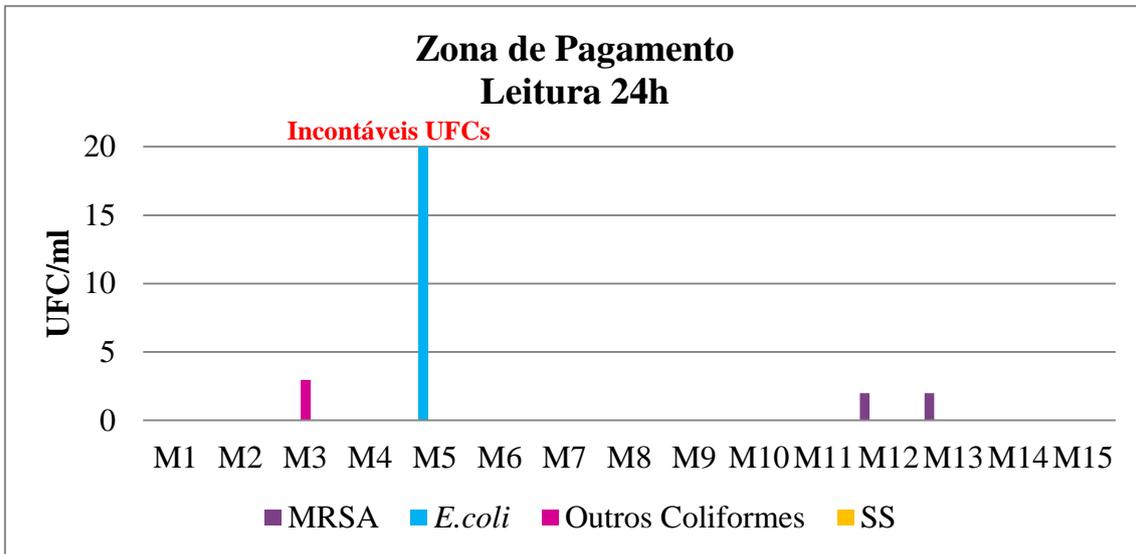


Gráfico 3- Leitura 24h das amostras recolhidas na zona de pagamento das bactérias: MRSA, *E. coli*, outros coliformes, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. (SS).

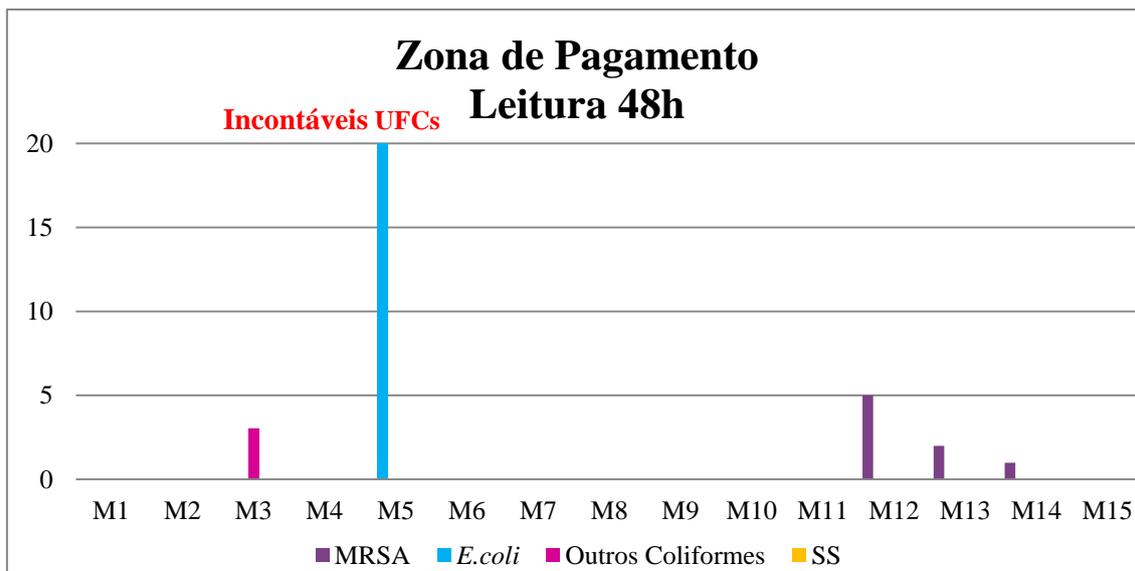


Gráfico 4- Leitura 48h das amostras recolhidas na zona de pagamento das bactérias: MRSA, *E.coli*, *Salmonella* spp., e *Shigella* spp. (SS).

4.3- Avaliação da prevalência de microrganismos potencialmente patogênicos nas Frutas (24h e 48h)

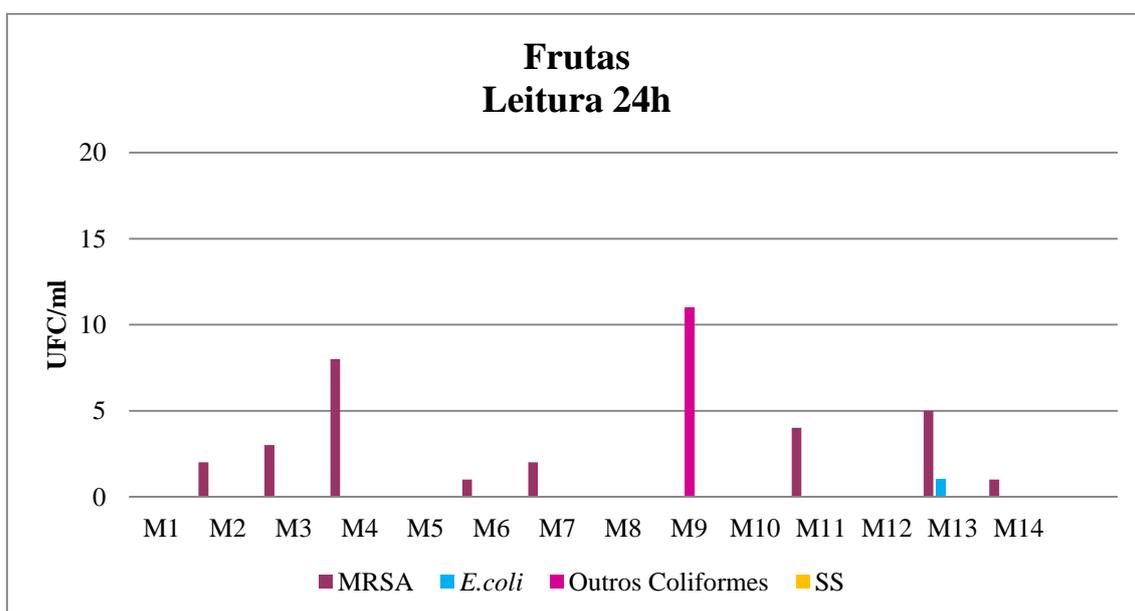


Gráfico 5- Leitura 24h das amostras recolhidas nas frutas das bactérias: MRSA, *E.coli*, *Salmonella* spp., e *Shigella* spp. (SS).

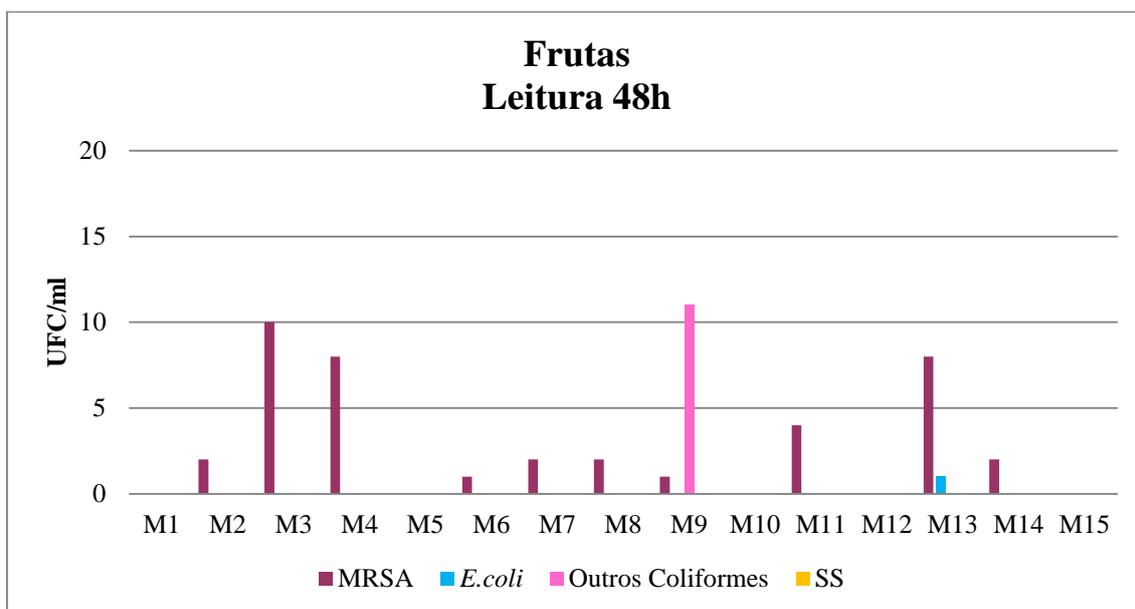


Gráfico 6 - Leitura 48h das amostras recolhidas nas frutas das bactérias: MRSA, *E.coli*, *Salmonella* spp., e *Shigella* spp. (SS).

4.4 – Análise de risco biológico por mercearias

No geral as mercearias contaminadas por MRSA na leitura 24h: M2, M3 M4, M6, M7, M11, M12, M13, M14. No armazém a mercearia mais é a M14 com 2 UFC/ml, na zona de pagamento é M12 e M13 ambos com 2 UFC/ml, nas frutas é a M4 com 8 UFC/ml. Entretanto, na leitura 48h as mercearias contaminadas por MRSA são: M2, M3, M4, M5 M6, M7, M8, M9, M11, M12, M13, M14. No armazém a mercearia mais contaminada é a M12 com 5 UFC/ml e nas frutas a mercearia mais contaminada é M3 com 10 UFC/ml.

Na avaliação da presença de *E.coli*, na leitura 24h verificou-se; ausência *E.coli* no armazém; incontáveis UFC/ml na M5 da zona de pagamento (no qual foi atribuído o valor de 200 UFC/ml de modo trabalhar com variáveis quantitativas); E nas frutas foi encontrado UFC/ml na M13. A leitura 48h manteve-se igual com exceção ao aparecimento de 1UFC/ml na M8. Resumidamente as mercearias com presença de *E.coli* são as M5, M8, M13 e a zona de amostragem mais contaminada por *E.coli* é a zona de pagamento na M5.

Em relação a presença de coliformes, a leitura 24h e 48h manteve-se igual, sem aumento destas bactéria após 48h de incubação. Sendo que as mercearias detetadas com

a presença deste microrganismo são: M3 com 3 UFC/ml na zona de pagamento e M9 com 11 UFC/ml nas frutas. Não foi detetado a presença de coliformes nas amostras recolhidas no armazém. A zona mais contaminada é as frutas na M9.

Não foi detetado risco de contaminação por *Salmonella spp.* ou *Shigella spp.*

4.5- Caracterização microbiológica do meio de cultura CHROMagar MRSA

4.5.1- Pesquisa de MRSA: Leitura 24h no Armazém

Na leitura de 24h do meio CHROMagar MRSA no armazém houve crescimento bacteriano de: 3 UFC/ml MRSA e 892 UFC/ml outras bactérias de várias tonalidades. Foi detetado a presença de MRSA pelas seguintes mercearias: M6 1 UFC/ml MRSA; M14 com 2 UFC/ml MRSA; Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 4.

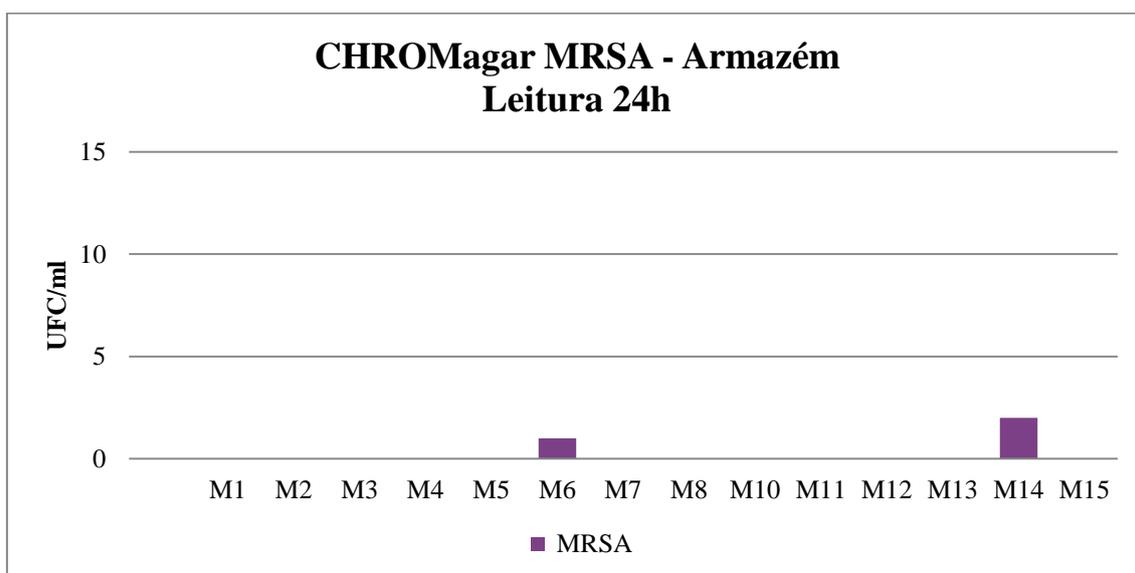


Gráfico 7-Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA no Armazém na leitura de 24h.

4.5.2- Pesquisa de MRSA: Leitura 48h Armazém

A leitura 48h no meio CHROMagar MRSA no Armazém verificou-se um aumento de crescimento para: 5 UFC/ml de MRSA e 1331 UFC/ml de outras bactérias. A presença de MRSA foi detetada nas seguintes mercearias: M5 1 UFC/ml e M6 1 UFC/ml e M14 3 UFC/ml . Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 5.

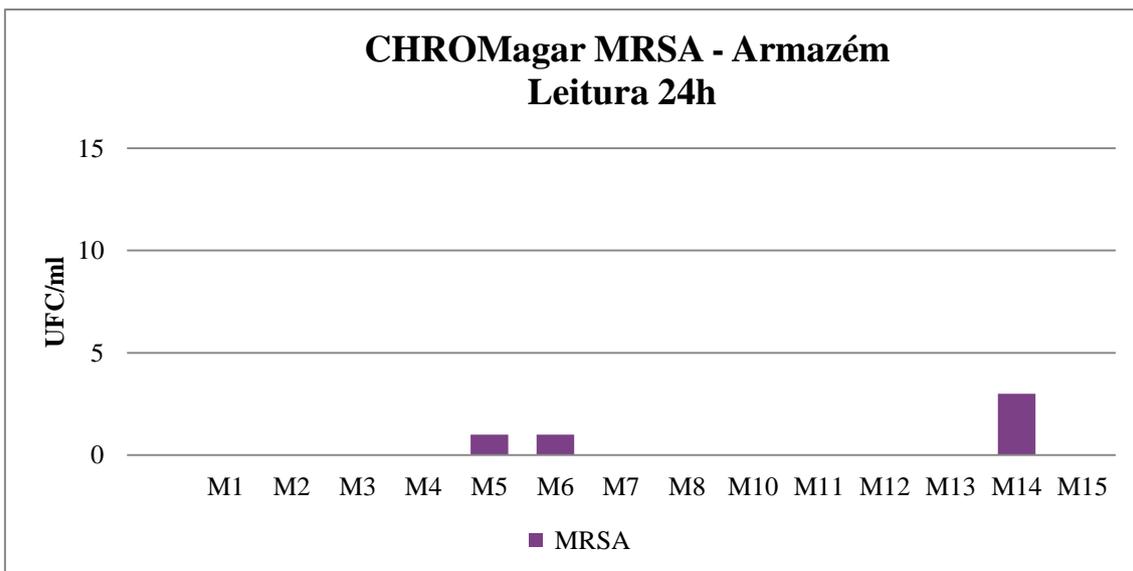


Gráfico 8- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA no Armazém na leitura de 48h.

4.5.3- Pesquisa de MRSA: leitura 24h na Zona de Pagamento

Na leitura 24h no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de pagamento foi registado o crescimento de: 4 UFC/ml de MRSA e 702 UFC/ml de outras bactérias. Na leitura 24h foi detetado a presença de MRSA nas seguintes mercearias: M12 e M13 ambas com 2 UFC/ml cada. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 6.

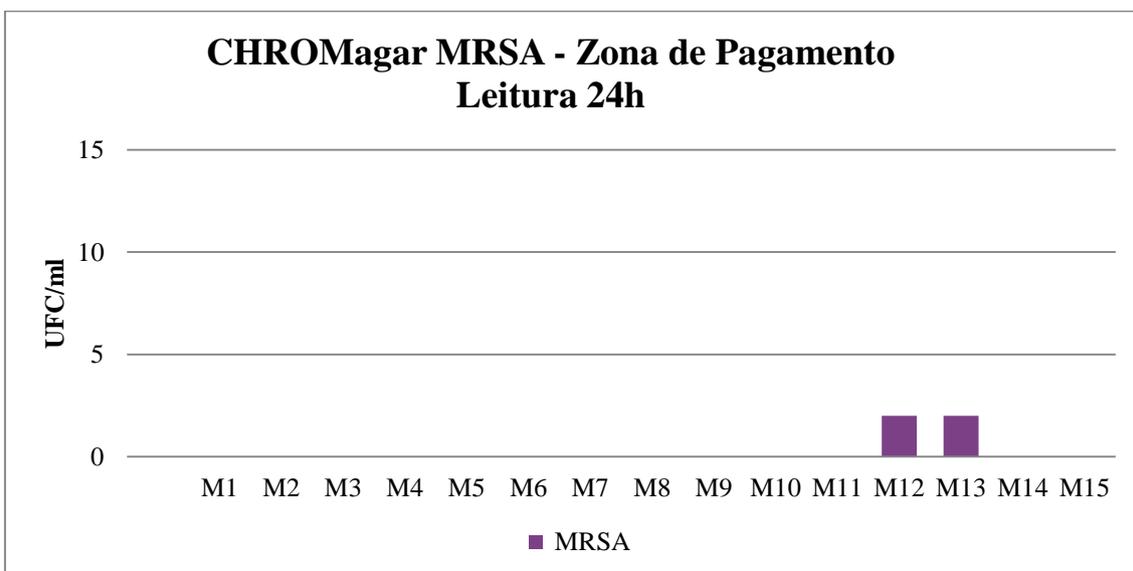


Gráfico 9- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de pagamento na leitura de 24h.

4.5.4- Pesquisa de MRSA: Leitura 48h Zona de Pagamento

Na leitura 48h no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de pagamento, verificou-se um aumento no crescimento bacteriano para: 8 UFC/ml de MRSA sendo 1162 UFC/ml de outras bactérias. Sendo que a presença de MRSA foi detetado nas seguintes mercearias: M12 com 5 UFC/m, M13 com 2 UFC/ml e M14 com 1 UFC/ml. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 7.

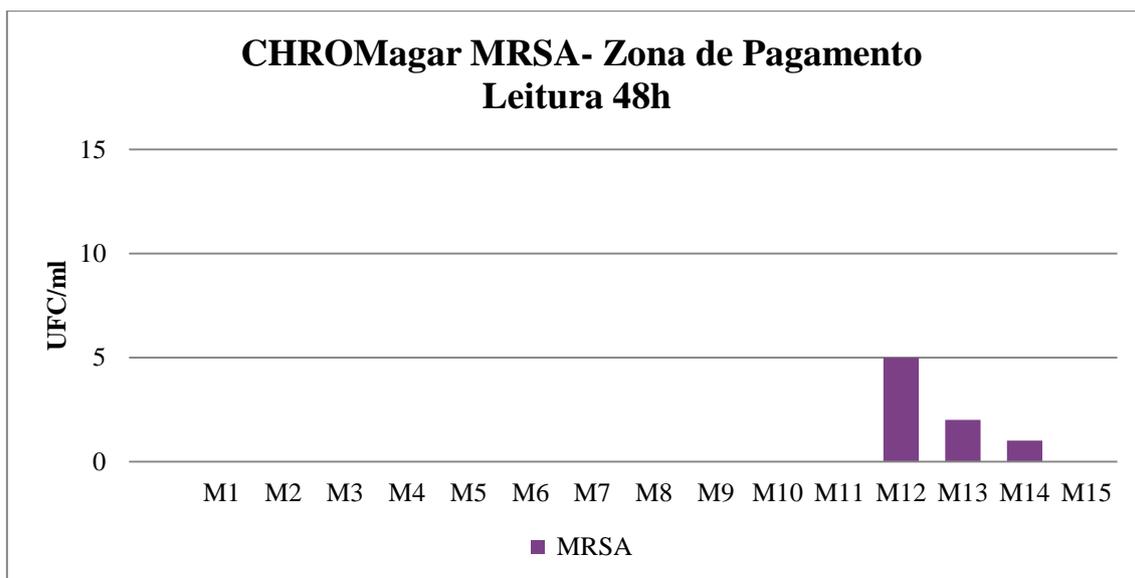


Gráfico 10-Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na Zona de Pagamento na leitura de 48h.

4.5.5- Pesquisa de MRSA: leitura 24h nas Frutas

Leitura a 24h no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de frutas, foi registado o crescimento de: 26 UFC de MRSA e 505 UFC/ml de outras bactérias. A presença de MRSA foi detetada nas seguintes mercearias: M2 com 2 UFC/ml, M3 com 3 UFC/ml; M4 com 8 UFC/ml, M6 com 1 UFC/ml, M7 2 UFC/ml, M11 com 4 UFC/ml, M13 com 5 UFC/ml e M14 com 1 UFC/ml. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 8.

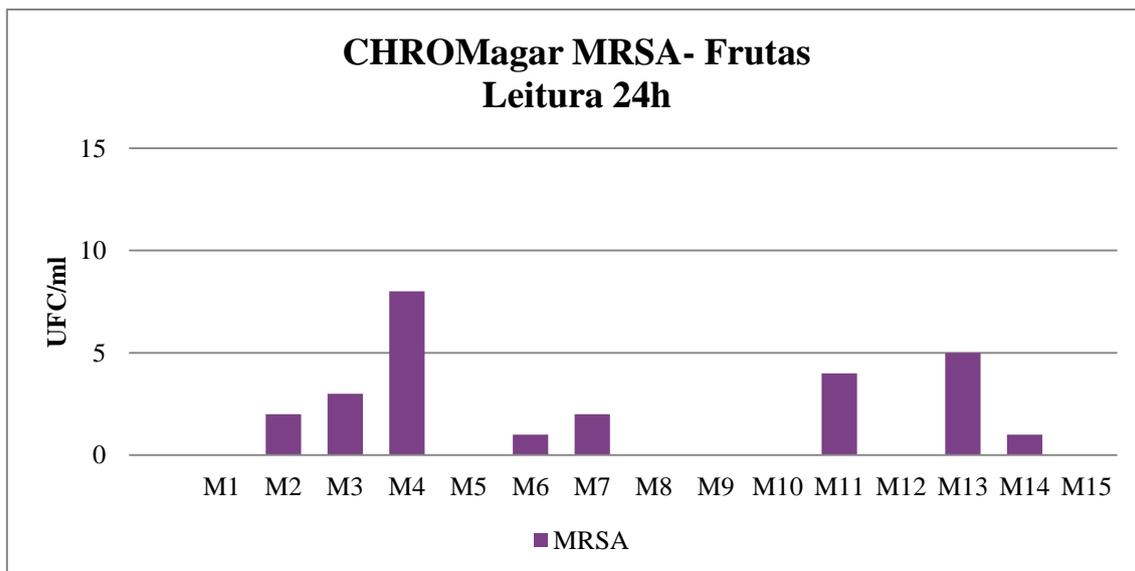


Gráfico 11-Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA nas frutas na leitura de 24h.

4.5.6- Pesquisa de MRSA: leitura 48h nas Frutas

Na leitura 48h no meio de cultura CHROMagar MRSA com as amostras recolhidas nas frutas verificou-se o aumento de crescimento para: 40 UFC de MRSA e 1302 UFC/ml de outras bactérias. A presença de MRSA foi detetada nas seguintes mercearias: M2 com 2 UFC/ml, M3 com 10 UFC/ml, M4 com 8 UFC/ml, M6 com 1 UFC/ml, M7 com 2 UFC/ml, M8 com 2 UFC/ml, M9 com 1 UFC/ml, M11 com 4 UFC/ml, M13 com 8 UFC/ml, M14 com 2 UFC/ml. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 9.

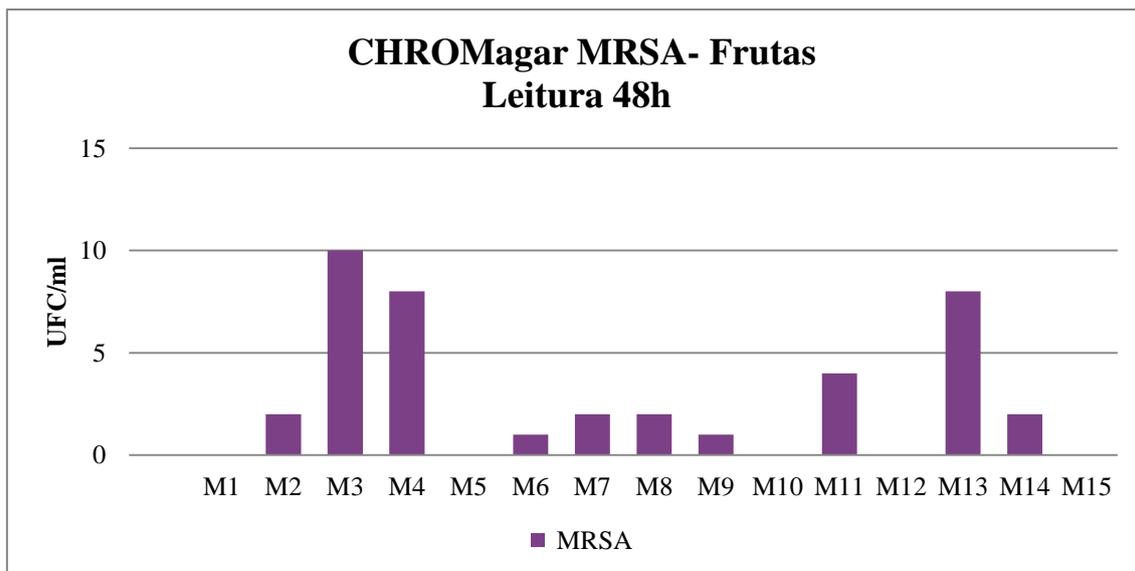


Gráfico 12- Contagem de MRSA presentes no meio de cultura CHROMagar MRSA na zona de frutas na leitura de 48h.

4.6- Caracterização microbiológica do meio de cultura CHROMagar ECC

4.6.1- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 24h no Armazém

Na leitura 24h do meio de cultura CHROMagar ECC na zona de armazém foi registado: Ausência de *E. coli* e outros coliformes, havendo apenas crescimento de outras bactérias 1033 UFC/ml.

4.6.2- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 48h no Armazém

Na leitura 48h do meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas no armazém foram encontrados: 1 UFC/ml *E.coli* e 2062 UFC/ml de outras bactérias. Ausência de coliformes nas amostras recolhidas no Armazém em ambas as leituras 24h e 48h e a presença de *E.coli* foi detetada na M8 com 1 UFC/ml. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 11.

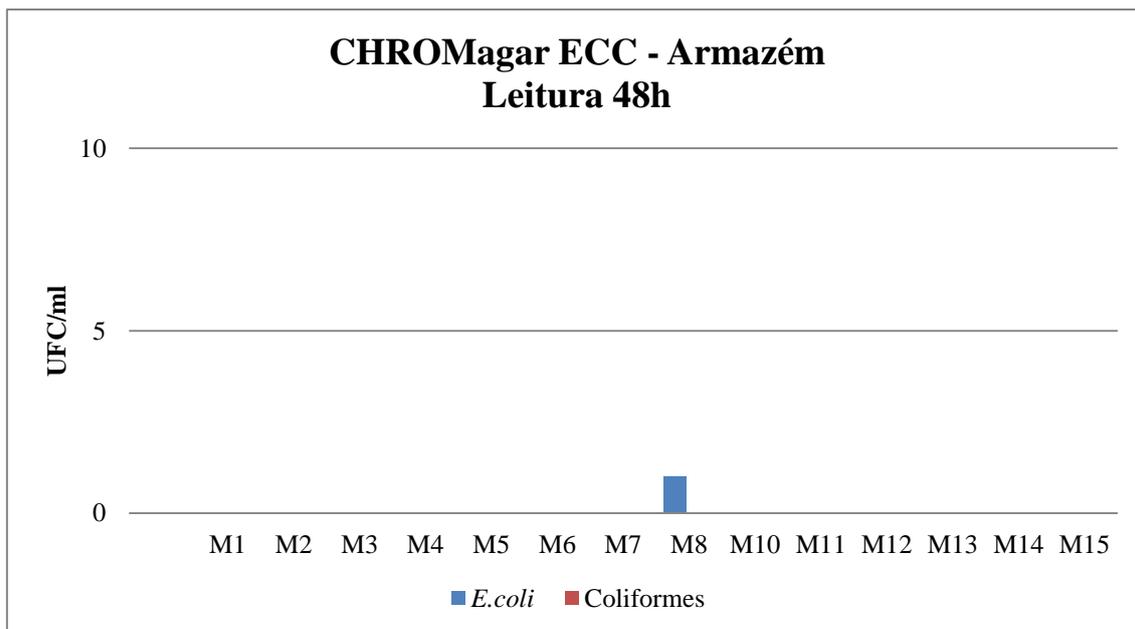


Gráfico 13- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas no armazém na leitura de 48h.

4.6.3-Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 24h na Zona de Pagamento.

Na leitura 24h do meio de cultura CHROMagar ECC com as amostras recolhidas na zona de pagamento foi encontrado: incontáveis UFC/ml *E. coli* (substituído pelo valor de 200 UFC/ml de modo trabalhar com variáveis quantitativas); 3 UFC de outros coliformes e 941 UFC/ml de outras bactérias. Estas bactérias patogénicas foram encontradas: Na **M3** 3 UFC/ml de outros coliformes; **M5** com incontáveis UFC/ml de *E. coli*. As restantes outras mercearias ausentes destes patógenos. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 12.

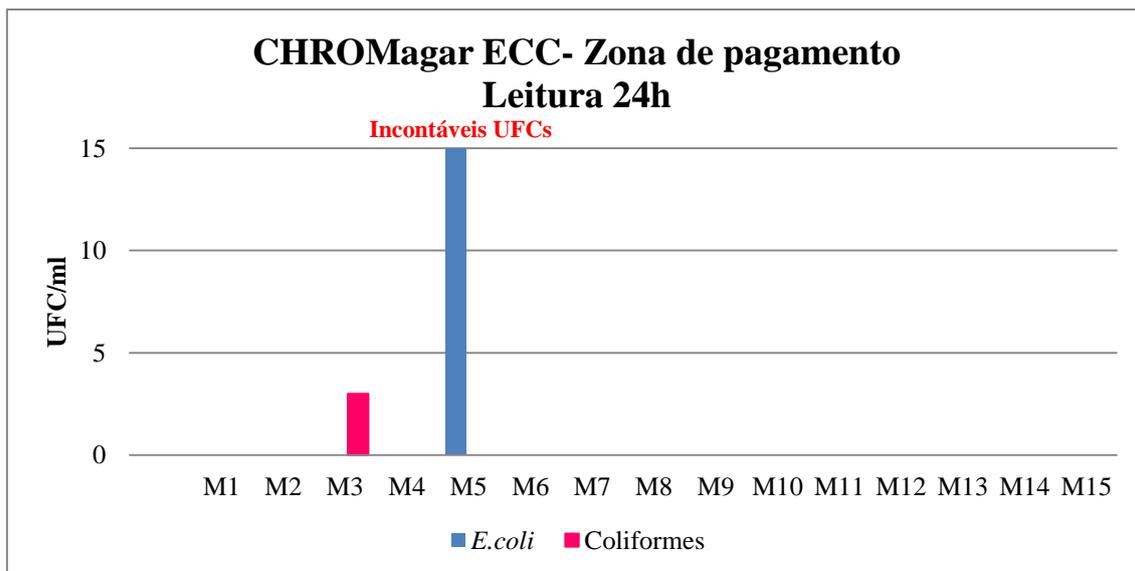


Gráfico 14- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas na zona de pagamento na leitura de 24h.

4.6.4-Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 48h no Zona de Pagamento.

Na leitura 48h do meio de cultura CHROMagar ECC com as amostras recolhidas na zona de pagamento não houve alteração com a leitura 24h apenas com o aumento de outras bactérias para 1598 UFC/ml. Sendo que os patógenos foram encontrados nas mercearias: **M3** 3 UFC/ml de outros coliformes; **M5** com incontáveis UFC/ml de *E.coli*. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 12.

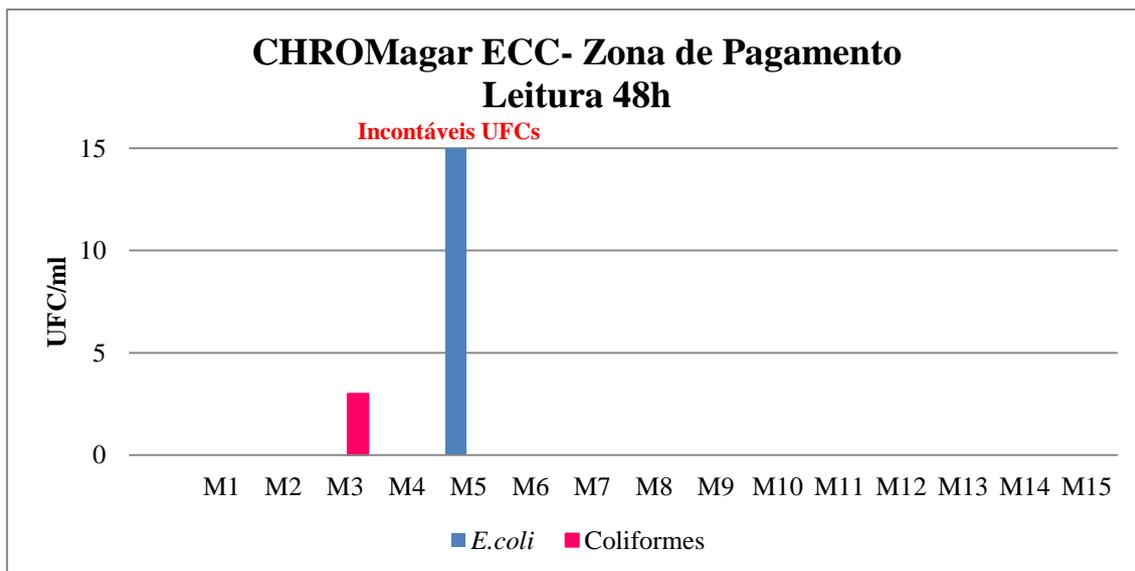


Gráfico 15- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas na zona de pagamento na leitura de 48h.

4.6.5-Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 24h nas Frutas

Na leitura 24h do meio de cultura CHROMagar ECC com as amostras recolhidas nas frutas foram registados seguintes resultados: 1 UFC/ml de *E. coli*, 11 UFC/ml de outros coliformes e 1388 UFC/ml de outras bactérias. Estas bactérias patogénicas foram encontradas nas mercearias da seguinte forma: **M9** 11 UFC/ml de outros coliformes; **M13** 1 UFC/ml de *E. coli*. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 14.

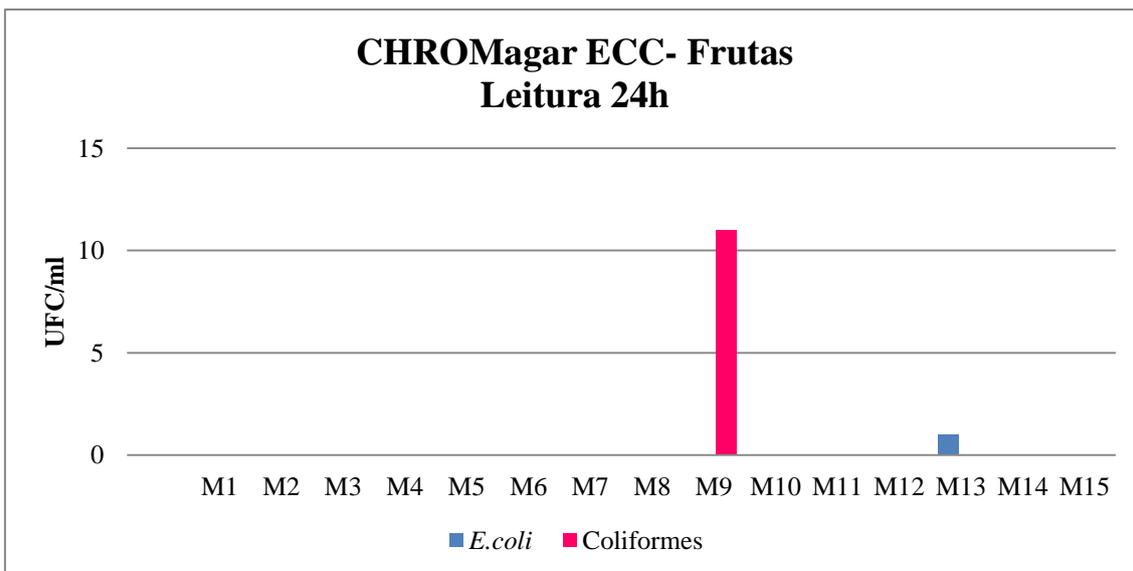


Gráfico 16- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas nas frutas na leitura de 24h.

4.6.6-Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes: Leitura 48h nas Frutas

Na leitura 48h feito no meio de cultura CHROMagar ECC contendo as amostras recolhidas nas frutas não houve alteração entre a leitura 24h exceto o aumento de outras bactérias para 1790 UFC/ml. Estes patógenos foram presentes nas seguintes mercearias: **M9** 11UFC/ml de outros coliformes; **M13** 1 UFC/ml de *E. coli*. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 15.

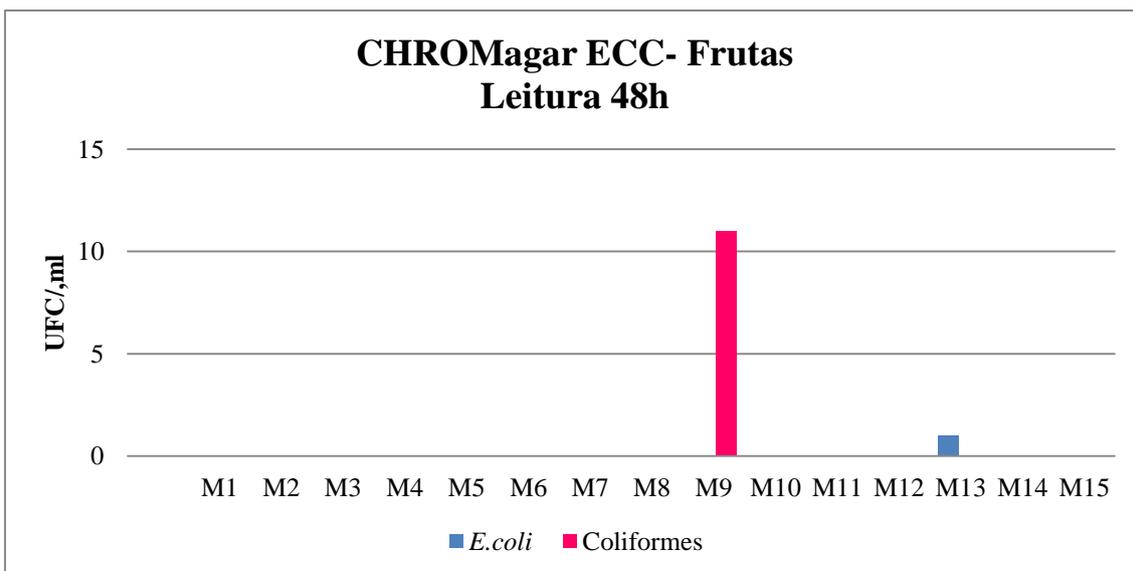


Gráfico 17- Pesquisa de *E. coli* e outros coliformes no meio de cultura CHROMagar ECC nas amostras recolhidas no armazém na leitura de 48h.

4.7- Caracterização microbiológica do meio de cultura SS Modified

De acordo com os resultados obtidos foi possível constatar a ausência de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. nas amostras recolhidas em ambos os três pontos de amostragem, deparando-se apenas com uma grande quantidade de outras bactéria na contagem 24h e 48h no meio de cultura SS Modified. Os resultados detalhados encontram-se tabelas no anexo 16-21.

A presença de contaminação por bactérias potencialmente patogénicas em ambiente ocupacional com exposição ao público, pode apresentar riscos quer para a saúde dos trabalhadores quer para a saúde pública. O presente estudo teve como principal objetivo avaliar a contaminação de bactérias potencialmente patogénicas, nomeadamente MRSA, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* em mercearias de região de Lisboa.

Os meios de cultura seletivos permitem a identificação de microrganismos específicos ou de interesse, impedindo crescimento bacteriano indesejado e os meios diferenciais permitem a distinção entre as colónias de interesse com as outras colónias presentes na mesma placa (9). Neste sentido os meios de cultura seletivos e diferenciais utilizados, CHROMagar MRSA e CHROMagar ECC permitiram detetar a presença de MRSA, *E.coli* e outros coliformes. E S.S Modified a ausência de *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* nas amostras analisadas, atingindo o principal objetivo deste estudo.

De acordo com os resultados obtidos, além das bactérias de interesse, foi possível observar também uma grande quantidade de outras bactérias em colónias de diversas tonalidades. Este crescimento dá-se pelo facto de os meios de cultura utilizado reunirem condições físicas e químicas para tal crescimento bacteriano, apesar que não serem consideradas como “alvo” deste trabalho (9).

A identificação da presença de MRSA nas amostras recolhidas, demonstra a existência, dispersão e a transmissão deste microrganismo em ambientes não hospitalares, ou seja em ambientes comunitários (47).

Qualquer pessoa está sujeita a contaminar com MRSA, os trabalhadores e frequentadores das mercearias uma vez expostos a essa bactéria podem contrair uma infeção por MRSA, caso não tratados corretamente podem desenvolver quadros clínicos mais severos como sepse, pneumonia, infeções sanguínea entre outras patologias graves (12).

Com este estudo, na leitura 24h após incubação foi detetado no total a presença 33 UFC/ml MRSA, sendo que 9 das 15 mercearias estão contaminadas. No Armazém foi contabilizado 3 UFC/ml, a M14 é a mais contaminada com 2 UFC/ml. Na zona de pagamento foi detetado 4 UFC/ml e M12 e M13 são as mais contaminadas, ambas com

2 UFC/ml. Nas frutas foi contabilizado 26 UFC/ml MRSA, a M4 é a mais contaminada com 8 UFC/ml.

Na leitura 48h verificou-se um aumento de colónias MRSA para 53 UFC/ml, distribuídos pelas 12 das 15 mercearias. No Armazém passou a ter 5 UFC/ml e a M14 continua sendo a mais contaminada com 3 UFC/ml. Na zona de pagamento a M12 é a mais contaminada com 5 UFC/ml. Nas frutas a M3 passou a ser a mais contaminada com 10 UFC/ml.

Segundo os “Valores - guia INSA”, a presença de estafilococos coagulase positiva possui um resultado satisfatório se o mesmo for $<10 \text{ UFC}/100\text{cm}^2$ numa superfície. (anexo 24). Com base nestes valores de referência constatou-se que as mercearias onde foi detetado a presença de MRSA em ambas as leituras 24h e 48h encontram-se dentro dos valores de referência, ou seja $<10 \text{ UFC}/100\text{cm}^2$ com exceção da M3 na leitura 48h nas zona de amostragem (100 cm^2) frutas com 10 UFC/ml (anexo 24).

Com os resultados obtidos também foi feito uma análise das frutas como alimento contaminado. Segundo os com “Valores - guia INSA”, a presença de estafilococos coagulase positiva em alimentos só é satisfatório se o mesmo for $<10 \text{ UFC}/\text{ml}$ (anexo 22). Com base nestes valores de referência e com os resultados de análise de frutas como alimento constatou-se que as mercearias contaminadas por MRSA na leitura 24 e 48h também encontram-se dentro dos valores de referência, com exceção da M3 com 10 UFC/ml.

Este estudo tinha como um dos objetivos específicos era a análise de contaminação por zonas de amostragem, onde verificou-se que a zona mais contaminada é a zona de frutas no total com 26 UFC/ml na leitura 24h e 40 UFC/ml na leitura 48h. Este fenómeno pode estar associado ao manuseio das frutas por várias pessoas. De acordo com *Center of Disease Control* (CDC) a transmissão de CA-MRSA ocorre principalmente através do contacto com pessoas infetadas/colonizadas ou instrumentos ou superfícies que se encontram contaminados, por exemplo frutas (12).

Entre as amostras analisadas também foi possível detetar a presença de *E.coli*. Na leitura 24h na zona de pagamento a M5 é a única mais contaminada com incontáveis UFC/ml. Nas frutas a M13 é a única contaminada com 1 UFC/ml. Na leitura 48h não

houve diferenças no crescimento comparado com a leitura 24h, com exceção aparecimento de 1 UFC/ml na M8 no Armazém.

Segundo “Valores-guia INSA” a presença de *E.coli* em superfície de amostragem é satisfatório de o resultado for <10 UFC/100cm². De acordo com os resultados de *E.coli* nas superfícies de amostragem constatou-se que na M5 em ambas as leituras 24/48h extrapola os valores de referência com incontáveis UFC/ml, sendo classificada como a mercearia mais contaminada por *E.coli*. As restantes duas mercearia M8 e M13 encontram-se dentro dos valores de referência (anexo 24).

A presença de *E.coli* na zona de frutas mais concretamente na M13 foram comprados com os valores de referência “Valores-guia INSA”, do ponto de vista de frutas como alimento, este só pode ter resultado satisfatório se não for detetado. No entanto constatou-se 1 UFC/ml na M13, o que traduz num resultado acima do valor máximo admissível (anexo 22).

A zona mais contaminada por *E.coli* é a zona de pagamento com incontáveis UFC/ml na M5, resultado que extrapola os valores referência ou seja superior a 10 UFC/100cm². Estes dados podem ser justificados com o contato de pessoas a pessoa, superfícies e recipientes que contém alimentos contaminados são também formas de transmissão e ou contaminação por *E.coli* (8) (anexo 24).

Adicionalmente, foi ainda possível identificar a presença de outros coliformes, sendo que no total foi encontrado cerca de 14 UFC/ml, sem alteração na leitura 24h e 48h. No armazém ausente de contaminação por outros coliformes, na zona de pagamento foi encontrado 3 UFC/ml na M3 e nas frutas foram encontrados 11 UFC/ml na M13 Concluindo que as únicas mercearias com outros coliformes são M3 e M1, e a zona de amostragem mais contaminada é as frutas.

A presença coliformes nas superfícies da zona de pagamento na M3 e nas frutas M13, são resultados satisfatórios, uma vez que de acordo com os “Valores-guia INSA”, referente a presença de *Enterobacteriaceae* em superfície 2A do ambiente de preparação/ distribuição alimentar deve ser inferior a 10² UFC/100cm² (anexo 24).

Na análise dos resultados de amostra de frutas como alimento, a presença de 11 UFC/ml também se encontra dentro de valores recomendáveis para a presença de

Enterobacteriaceae a 37°C em alimentos prontos para consumo, ou seja, inferior a 10⁴ UFC /ml (81) (anexo 23).

A zona mais contaminada por coliformes é a zona de frutas com 11 UFC/ml. A presença de outros coliformes, é um indicador da qualidade de boas práticas de higiene, sabe-se que transmissão e ou a contaminação de coliformes ocorre entre pessoas a pessoas, alimentos, superfícies e mãos contaminadas (83). Assim, a presença destes microrganismos nas frutas pode ser pelo contacto de pessoas com mãos contaminadas para escolher a melhor fruta. Na zona de pagamento pode ser pelas mãos contaminadas, pelo aglomerado de pessoas e pelo fato de mexer em outros utensílios que podem estar contaminados como a carteira, cartões multibancos, entre outros.

A detecção de outros coliformes requer testes de identificação de *Enterobacteriaceae*, bem como teste de fermentação de lactose a temperaturas diferentes de forma agrupá-los em coliformes totais ou termorregulares. Caso seja *Enterobacter* spp. ou *Klebsiella* spp. os trabalhadores e frequentadores das mercearias contaminadas estão expostos bactéria oportunistas, que raramente estão produzem doenças humanas primara, estando associadas a infeções nosocomiais e muito resistentes a uma ampla gama de antibióticos. O grupo de risco inclui imunodeprimidos e pacientes que usam antibióticos (84,85).

É ainda de grande relevância referir que, não foi isolada em nenhuma das amostras recolhidas nos três pontos de amostragem a presença de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp., o que é extremamente satisfatório tendo em conta que são bactérias patogénicas e, portanto, estes resultados encontram-se dentro dos valores referência (81).

Estudo semelhante foi realizado, cujo tema prevalência do *S. aureus* resistente à meticilina numa superfície alimentar da Guarda, no qual recolheram amostras da mucosa nasal dos manipuladores de alimentos, em bancadas de secções alimentares do talho nomeadamente do pescado e hortofrutícolas, e 2 produtos alimentares de cada secção de superfície alimentar. No requisito de contaminação de bancada e amostras alimentares foram realizados testes de sensibilidade à meticilina (5ug), no qual constaram resistência e, Perca do Nilo, carne moída de suíno e zaragatoa de “carne 2” e sensibilidade para esse antibiótico nas amostras recolhidas nas bancadas e peixes (86).

Este estudo referido acima vai de em conta com meu trabalho, uma vez que comprova a existência de MRSA, em ambientes não nosocomiais, mais precisamente em produtos alimentícios.

Outro estudo cujo tema “Avaliação da qualidade microbiológica e condições de manuseamento de alimentos servidos em Escolas Básicas de Lisboa, Portugal”, teve como objetivo: avaliar a qualidade das refeições servidas e as condições de manuseamento em 69 Escolas Básicas de 1º ciclo sob gestão da Câmara Municipal de Lisboa, através de análises microbiológicas. Como resultado registou-se ausência *Salmonella spp*; Presença de *E. coli*, sendo que 98% dos resultados são satisfatórios e 2% dos resultados não são satisfatórios no grupo 1 e 2; presença de coliformes 30º com resultados não satisfatórios no grupo 3 com 66.7% (87).

Este estudo assim como os resultados obtidos com o meu trabalho reflete na importância de boas práticas de higienização. Apesar de se tratar de amostras de locais diferentes, a presença de *E.coli* e coliformes podem ser fontes de exposição para os demais consumidores.

6-Conclusão

A exposição ocupacional a riscos biológicos é de extrema relevância para a saúde dos trabalhadores, e, em contextos de exposição a consumidores de bebidas e alimentos essa relevância estende-se à saúde pública. Este estudo permitiu avaliar riscos biológicos associados à exposição ocupacional, onde foi possível detetar a presença de MRSA, *E.coli* e outros coliformes em amostras recolhidas em 15 mercearias da Região de Lisboa. O facto destas fontes de contaminação não serem restritas aos trabalhadores destas mercearias, mas sim a todos os que as frequentam, eleva a importância deste estudo, devido ao grande impacto a nível de saúde pública, uma vez que se trata de bactérias potencialmente patogénicas e com resistência a antibióticos.

Com a caracterização microbiológica das amostras foi possível isolar MRSA, o que é extremamente relevante, tanto para a saúde dos profissionais bem como os demais frequentadores das mercearias, pelos potenciais impactos negativos à saúde. MRSA consegue sobreviver em algumas superfícies por horas, dias até semanas, portanto uma das medidas importantes que podem ser adotadas para evitar a contaminação e a transmissão é através da lavagem de mãos, desinfeção com álcool (60-70%); limpeza, lavagem e desinfeção de superfícies, utensílios, alimentos que frequentemente entram em contacto com a pele (12). A maior prevalência de MRSA foi detetada na zona das frutas, o que corrobora a sua prevalência proporcional à manipulação de alimentos, seja por ação humana ou mecânica, quando mais processos de manuseamento sofrer o alimento maior será a probabilidade de ficar contaminado (88). Portanto sugere-se que sejam feitas higienização adequada dos utensílios, dos equipamentos e do próprio manipulador, como estratégia de prevenção.

A presença de *E.coli* e outros coliformes está associado a má práticas de higienização e desinfeção, medidas corretivas devem ser implementadas para reduzir a presença destas bactérias. Condutas de boa higienização devem ser praticadas principalmente na zona de pagamento, uma vez que foi a mais contaminada por *E.coli*. Sabendo que a *E.coli* é uma bactéria termorresistente e que uma das formas de contaminação é a via fecal-oral, as principais medidas para evitar a transmissão é a lavagem correta das mãos, desinfeção de superfícies e cozinhar bem os alimentos (89).

Estas mesmas medidas de higienização devem ser aplicados para a prevenção de outros coliformes, que de acordo com este estudo as amostras recolhidas nas frutas é a mais contaminada por estas bactérias. A contaminação microbiológica de alimentos tem sido um objeto de preocupação constante em diversos países.

Não foi encontrado a presença de *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* nas amostras recolhidas, o que é extremamente positivo, uma vez que estas duas bactérias são capazes de causar elevados problemas para a saúde dos trabalhadores e por sua vez surtos em grande escala (5,25,90).

Neste estudo, com o tema “Avaliação de contaminantes microbiológicos potencialmente patogénicos em Mercarias da região de Lisboa”, foi possível atingir os principais objetivos propostos nomeadamente, avaliar a contaminação por MRSA, *E.coli*, outros coliformes, *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* de mercearias da região de Lisboa, determinar as zonas de amostragem mais contaminada: zona de pagamento (*E.coli*), frutas (MRSA e outros coliformes) e avaliar potenciais medidas de melhoria de forma a proteger a saúde dos trabalhadores e a saúde dos consumidores que frequentam os locais avaliados.

Este estudo serviu-me como base para estudos futuros semelhantes, no qual seria pertinente realizar o mesmo estudo em mercearias em Cabo Verde, mais concretamente na cidade da Praia (cidade capital), ilha de Santiago. E posteriormente comparar os resultados obtidos nas mercearias em Cabo Verde com as de Portugal. Na presença de microrganismos potencialmente patogénicos como MRSA, *E.coli*, coliformes ou *Salmonella spp.* e *Shigella spp.* poderia também conservar as amostras recolhidas para que estes sejam submetidos a testes moleculares para a identificação da linhagem patogénica, resistência a antibióticos dos diferentes microrganismos de estudo.

7-Referências Bibliográficas

1. WHO (World Health Organization). (2005). Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1. A partir de: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43252/9241592330.pdf;jsessionid=44CED011743050C1D6A8A8B0FB07BF08?sequence=1>
2. HSA (Health and Safety Authority). (2013). Guidelines to the Safety, Health and Welfare at Work (Biological Agents). A partir de: http://www.hsa.ie/eng/Topics/Biological_Agents/#biologicalagents
3. Kluytmans-Vandenbergh, MFQ., Kluytmans, JAJW. (2006). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. *Clin Microbiol Infect.*12(s1):9–15
4. Miller, LG., Diep, BA. (2008). Colonization, Fomites, and Virulence: Rethinking the Pathogenesis of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clin Infect Dis* 1;46(5):752–60
5. Murray, PR., Rosental, KS., Pfaller, MA. (2017). *Microbiologia Média* (8 Ed) Rio de Janeiro: Elsevier.
6. Niyogi, SK. (2005). Shigellosis. *The Journal of Microbiology*, vol. 42, n. 2, p. 133-143. Nunes MR, Magalhães PP, Penna FJ, Nunes JM, Mendes EN 2012. Diarrhea associated with *Shigella* in children and susceptibility to antimicrobials. *J Pediatr (Rio J)*, vol. 88,n. 2, 125-128.
7. Tickell, KD., Brander, RL., Atlas, HE., Pernica, JM., Walson, JL., Pavlinac, PB. (2017). Identification and management of *Shigella* infection in children with diarrhoea: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. Dec;5(12):e1235-e1248. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30392-3. PMID: 29132613; PMCID: PMC5695759.
8. WHO (World Health Organization). (2018). *E.coli* A partir de: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
9. Tortora, GJ., Funke, BR., Case, CL. (2017). *Microbiologia* (12ª Ed) PT.
10. WHO (World Health Organization) (2021). Antibiotic resistance A partir de: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
11. Baptista, I., Rocha, SM., Cunha, Â., Saraiva, JA., & Almeida, A. (2016). Inactivation of *Staphylococcus aureus* by high pressure processing: An overview. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 128-149.
12. CDC (Center for Disease Control and Prevention). (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Cleaning and Disinfection. A partir de : <https://www.cdc.gov/mrsa/community/environment/index.html>

13. Direção Geral de Saúde (DGS). (2016). MRSA Portugal e Europa. A partir de: https://www.anci.pt/sites/default/files/mrsa_-_portugal_e_europa.pdf
14. Foley, SL., Lynne, A.(2008). Desafios da Salmonella associada a alimentos: patogenicidade e resistências antimicrobianas. *Journal of Animal Science* 86(14 Supl):E173-87.DOI:10.2527/jas.2007-0447.
15. Lakhundi, S., Zhang, K. (2018) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev.* 31(4):1–103.
16. Lee, AS., Lencastre, HD., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-kumar, S., Peschel, A., et al. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Prim.* 1–23.
17. Ondusko DS, Nolt D. *Staphylococcus aureus*. (2018). *Pediatr Rev.*;39(6):287-298. Doi: 10.1542/pir.2017-0224. PMID: 29858291.
18. Plym, LF., Wierup, M.(2006). Salmonella contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. *Rev Sci Tech*;25(2):541-54. PMID: 17094696.
19. Switt, AIM., Soyer, Y., Warnick, LD., Wiedmann, M. (2009). Emergence, distribution and molecular and phenotypic characteristics of *Salmonella enterica* serotype 4,5,12:i:-. *Foodborne Pathog Dis* 6: 407-415.
20. Warren, L. (2011). *Microbiologia Médica e Imunologia*. (10 Ed) Porto Alegre: AMGH.
21. Cabo Verde, S., Almeida, S. M., Matos, J., Guerreiro, D., Meneses, M., Faria, T., Viegas, C. (2015). Microbiological assessment of indoor air quality at different hospital sites. *Research in Microbiology*, 166(7), 557–563. doi:10.1016/j.resmic.2015.03.004
22. WHO (World Health Organization). (2017). Protecting workers' health. A partir de: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/protecting-workers'-health>
23. Lei n.º 102/2009, de 10 de setembro. Assembleia da República. Regime jurídico da promoção da segurança e saúde no trabalho. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 176 — 10 de Setembro de 2009. A partir de: <https://files.dre.pt/1s/2009/09/17600/0616706192.pdf>
24. Franco, H., Cano, M., Brum, L., Jos, M., Pires, L., Silva, S., Neto, M. (2004). Direção-geral da saúde Divisão de Saúde Ocupacional, Lisboa.
25. CDC (Center for Disease Control and Prevention). *Shigella (Shigelose)* (2020). A partir de : <https://www.cdc.gov/shigella/index.html>
26. Stetzenbach, LD., Buttner, MP., Cruz, P. (2004). Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Curr Opin Biotechnol*;15(3):170-4. doi: 10.1016/j.copbio.2004.04.009. PMID: 15193322.
27. Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH). (2009). Recomendaciones para la selección y el uso de respiradores y ropa protectora contra

- agentes biológicos. A partir de: https://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2009-132_sp/default.html
28. Jacob, FR., Gatti, LL. Importância da coloração de Gram no diagnóstico microbiológico e variações na sua execução. (2016). Disponível em: https://cic.unifio.edu.br/anaisCIC/anais2016/pdf/09_05.pdf
 29. Moldoveanu, AM. (2015). Biological Contamination of Air in Indoor Spaces. In: Farhad Nejadkoorki, editor. Current Air Quality Issues.
 30. Doyle, MP., Buchanan, RL. (2007). Food microbiology: Fundamentals and Frontiers (3rd ed.). Washington: ASM.
 31. Jenkins, A., An Diep, B., Mai, TT., Vo, NH., Warren, P., Suzich, J., et al. (2015). Differential expression and roles of Staphylococcus aureus virulence determinants during colonization and disease. MBio. 6(1):1–10.
 32. Bettega JMPR, Machado MR, Presibella M, Baniski G, Barbosa CA. (2006) Métodos analíticos no controle microbiológico da água para consumo humano. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 30, n. 5, p. 950-954.
 33. Benner FW., Villar RG., Angulo FJ., Tauxe R., Swaminathan B. (2000) Salmonella Nomenclature. Journal of clinical microbiology, 0095-1137/00/\$04.0010, p. 2465–2467.
 34. Peacock, SJ., Paterson, GK. Mechanisms of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. (2015). Annu Rev Biochem. 2015;84:577–601.
 35. Stapleton, PD., Taylor, PW. (2002). Methicillin resistance in Staphylococcus aureus: mechanisms and modulation. Sci Prog. 85(Pt 1):1–14.
 36. Taylor, TA., Unakal, CG. (2020). Staphylococcus Aureus [Internet]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). A partir de: <http://europepmc.org/books/NBK441868>
 37. Shinohara, NKS., Barros, VB., Jimenez, SMC., Machado, ECL., Dutra, RAF., Filho, JLL. (2008). Salmonella spp. Importante agente patogénico veiculado em alimentos. A partir de: <https://www.scielo.br/j/csc/a/vzk44zy3zYQxMD5YN38jY4s/?format=pdf&lang=pt>
 38. Cohen, ML. (1992). Epidemiology of drug resistance: implications for a postantimicrobial era. Science 257:1050–1055
 39. Barker, KF. (1999). Antibiotic resistance: a current perspective. Br J Clin Pharmacol 48:109–124.
 40. Friieri, M., Kumar, K., Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. J Infect Public Health.;10(4):369–78. A partir de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
 41. Smith, RD., Coast, J. (2002). Antimicrobial resistance: a global response. Bull WHO 80:126–133.
 42. Virk, A., Steckelberg, JM.(2000). Clinical aspects of antimicrobial resistance. Mayo Clin Proc.;75(2):200-14. doi: 10.4065/75.2.200. PMID: 10683663.

43. Skov, RL., Jensen, KS. (2009). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of hospital-acquired infections. *J Hosp Infect.* 73(4):364-70.
44. Carretto, E., Visiello, R., Nardini, P. (2018). Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Pet-to-Man Travel Staphylococci A World Prog.* 2018;85(Pt 1):225–35.
45. Boswihi SS, Udo EE.(2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : An update on the epidemiology , treatment options and infection control. *Curr Med Res Pract* [Internet].1–7. A partir de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmrp.2018.01.001>
46. Laux, C., Peschel, A., Krismer, B. (2018). *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members. *Microbiol Spectr.* 7(2):1–10.
47. Chavez, TT., Decker, CF. (2008). Health Care-Associated MRSA Versus Community-Associated MRSA. *Disease-a-Month*;54(12):763–8. A partir de from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.disamonth.2008.09.004>
48. DeLeo, F., Chambers, HF. (2009). Reemergence of antibiotic resistant in the genomics era. *J Clin Invest* 2009; 119: 2464-74.
49. Iwamoto, M., Mu, Y., Lynfield, R., Bulens, SN., Nadle, J., Aragon, D., et al. (2013). Trends in Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Pediatrics.* 132(4):e817–24.
50. Sola, C., Paganini, H., Egea, AL., Moyano, AJ., Garnero, A., Kevric, I. (2012). Spread of epidemic MRSA-ST5-IV clone encoding PVL as a major cause of community onset staphylococcal infections in Argentinean children. *PLoS ONE.* 7(1):e30487.
51. Leclercq, R. (2009). Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci. *Clin Microbiol Infect.* 15(3):224-31.
52. Chambers, HF., DeLeo, FR. (2009). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*; 7: 629-41.
53. Diekema, DJ., Pfaller, MA., Schmitz, FJ., Smayevsky, J., Bell, J., Jones, RN., Beach, M.(Survey of infectious due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32:114S-132S.
54. Larsen, AR., Stegger, M., Bocher, S., Sorum ,M., Monnet, DL., Skov, RL. (2009). Emergence and characterization of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Denmark, 1999 to 2006. *J Clin Microbiol.* 47(1):73-8.
55. Direção Geral de Saúde (DGS). (2016). MRSA Portugal e Europa. A partir de: https://www.anci.pt/sites/default/files/mrsa_-_portugal_e_europa.pdf

56. Janda, MJ., Abbott, SL. (2021). The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clin Microbiol Rev.* Doi: 10.1128/CMR.00174-20
57. Farmer, JJ., III, Farmer MK., Holmes, B. (2005). The Enterobacteriaceae: general characters, p 1317–1359. In Borriello SP, Murray PR, Funke G (ed), Topley & Wilson's microbiology & microbial infections, 10th ed, vol 2.
58. Macedo, VF., Zanardo, JG., Lopes, EPC., Mendonça, HMDM., Raymundo NLS., Moraes R. (2016) Prevalência de coliformes e staphylococcus aureus em mãos de manipuladores de alimentos de feira livre de Vitória-ES. *Salus J Health Sci.* 2(2): 27-38. DOI: <https://dx.doi.org/10.5935/2447-7826.20160014>
59. Frilabo. (2021). CHROMagar ECC. A partir de: <https://www.frilabo.pt/produto/chromagar-ecc-1000ml/>
60. Pedrosa, AC., Sylvestre, SHZ., Fernandes, GFR.(2015) Avaliação microbiológica das mãos de manipuladores de alimentos de uma cozinha piloto do município de Pirangi-SP. *Int J MedSci Clin Invent.* 2(07):1126–34
61. CDC (Center for Disease Control and Prevention).(2009) Drinking Water. A partir de <https://www.cdc.gov/healthywater/drinking/private/wells/testing.html>
62. Gomes, TA., Elias, WP., Scaletsky, IC., Guth, BE., Rodrigues, JF., Piazza, RM., Ferreira, LC., Martinez, MB. (2016). Diarrheagenic Escherichia coli. *Braz J Microbiol.* doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.015. Epub. PMID: 27866935; PMCID: PMC5156508.
63. Jang, J., Hur, HG., Sadowsky, MJ., Byappanahalli, MN., Yan, T., Ishii, S. (2017). Environmental Escherichia coli : ecology and public health implications — a review. *Journal of Applied Microbiology* 123: 570–581.
64. CDC (Center for Disease Control and Prevention). (2014).E.coli (Escherichia coli). A partir de: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>
65. Callaway, TR., Edrington, TS., Anderson, RC., Byrd, JA., Nisbet, DJ. (2008). Gastrointestinal microbial ecology and the safety of our food supply as related to Salmonella. *Journal of Animal Science*, v.86, n.14, suppl., p.E163-E172.
66. Clavijo, V., Morales, T., Vives-Flores, MJ., Muñoz, AL. (2022). The gut microbiota of chickens in a commercial farm treated with a Salmonella phage cocktail. *Sci Rep* 12, 991 (2022). A partir de: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04679-6>
67. Chattaway, M.A., Langridge, G.C. & Wain, J. (2021). Salmonella nomenclature in the genomic era: a time for change. *Sci Rep* 11, 7494. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86243-w>.
68. CDC (Center for Disease Control and Prevention). (2018). Salmonella Prevention A partir de : <https://www.cdc.gov/salmonella/general/prevention.html>

69. Schroeder, GN., Hilbi, H. (2008) Molecular Pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling Host Cell Signaling, Invasion, and Death by Type III Secretion. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 21, n. 1, p. 134-156.
70. Freitas, MB., Brilhante, OM., Almeida, LM. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. (2001) *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 17(3):651-660. A partir de: <https://www.scielo.br/j/csp/a/N5fLPRCByVWSXRxKZp4KLsL/?format=pdf&lang=pt>
71. Lopes, IMQB. Laboratory Surveillance of *Salmonella enterica* in Portugal, 2020. (2021). Tese de mestrado em Microbiologia aplicada. Universidade de Lisboa. Disponível em: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/51212/1/TM_Iuri_Lopes.pdf
72. Cunha, F., Vilela, Michelle., Maximiano T., Barbosa, T., Guimarães, D., Toledo, R. *Shigella* sp: Um problema de saúde pública. (2017). *Higiene Alimentar - Vol.31 - nº 264/265*. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/04/833025/264-265-sitecompressed-52-57.pdf>
73. Viera, J. Ribeiro, A., Ximenes, R., Rodrigues, L., Nunes, D., Souza, V. Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. (2021). *Research, Society and Development*, v. 10, n. 6, e58810616303, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16303>
74. Loureiro, R., Roque, F., Rodrigues, A., Herdeiro, M., Ramalheira., E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. (2016). *Revista Elsevier*, DOI: 10.1016/j.rpsp.2015.11.003. A partir de: <https://www.elsevier.es/en-revista-revista-portuguesa-saude-publica-323-articulo-o-uso-antibioticos-e-as-S087090251500067X>
75. Padiyara, P., Inoue, H. & Sprenger, M. (2018). Global Governance Mechanisms to Address Antimicrobial Resistance. *Infect Dis (Auckl)*. 11, 1-4.
76. Portugal. Ministério da Saúde. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Prevenção das Resistências aos Antimicrobianos. Lisboa: DGS. Ministério da Saúde; 2009.
77. Viegas, C., Faria, T., de Oliveira, AC., Caetano, LA., Carolino, E., Gomes, A., Carolina, E., Twarużek, M., Kosick, R., Soszczyńska, E., Viegas, S. (2017). A new approach to assess occupational exposure to airborne fungal contamination and mycotoxins of forklift drivers in waste sorting facilities. *Mycotoxin Res.* 20;33(4):285–95. A partir de: <http://link.springer.com/10.1007/s12550-017-0288-8>
78. Fan Z-HT. (2011). Passive Air Sampling: Advantages, Limitations, and Challenges. *Epidemiology.* 22:S132.
79. Viegas, C. (2018). Avaliação da exposição a agentes (micro) biológicos. A partir de:

- <https://repositorio.ipl.pt/bitstream/10400.21/9266/1/Avalia%C3%A7%C3%A3o%20da%20exposi%C3%A7%C3%A3o%20ocupacional%20a%20agentes%20microbiol%C3%B3gicos.pdf>
80. Frilabo. (2021). CHROMagar MRSA. A partir de: <https://www.frilabo.pt/produto/chromagar-mrsa-20-placas/>
81. Valores-Guia. Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (2019). A partir de: https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2019/12/INSA_Valores-guia.pdf
82. Autoridade de segurança alimentar e económica. Escherichia coli. A partir de: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/escherichia-coli.aspx>
83. Geus, J. A. M., Lima, I. A. Análise de coliformes totais e fecais: Um Comparativo entre técnicas oficial VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes. Anais do II Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais, 2006.
84. Podschun R, Ullmann U. Klebsiella spp. As nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. (1998). Clin Microbiol Rev.;11(4):589-603. doi: 10.1128/CMR.11.4.589. PMID: 9767057; PMCID: PMC88898.
85. Regli, A., Lavigne, JP., Pagès, JM. Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. (2019). Clin Microbiol Rev 32:e00002-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19>.
86. Teixeira, R. Prevalência do S. aureus resistente à meticilina numa superfície alimentar da Guarda. (2015). Tese de mestrado apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. A partir de: <https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/30370/1/Tese%20Raquel%20Teixeira.pdf>
87. Figueiredo, A. Avaliação da qualidade microbiológica e condições de manuseamento de alimentos servidos em Escolas Básicas de Lisboa, Portugal. (2019). Tese de mestrado apresentada à Universidade de Lisboa. A partir de: https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/38272/1/ulfc124919_tm_Andreia_Figueiredo.pdf
88. Sergelidis, D. [et.al.] (2012). Prevalence, distribution, and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus in ready-to-eat salads and in the environment of a salad manufacturing plant in Northern Greece. Czech J. Food Sci. 30 285-29.
89. CDC (Center for Disease Control and Prevention).(2017). E.coli (Escherichia coli) Prevention. A partir de : <https://www.cdc.gov/ecoli/ecoli-prevention.html>
90. CDC(Center for Disease Control and Prevention). (2018). Salmonella Prevention A partir de : <https://www.cdc.gov/salmonella/general/prevention.html>

Anexo 1- Catálogo Frilabo do meio de cultura CHROMagar MRSA



CHROMagar MRSA (20 placas, 5000mL ou 2x5000mL)

Este produto está atualmente fora de estoque e indisponível.

COMPARAR

SKU: N/A

Descrição Benefícios

Isolamento e diferenciação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), incluindo MRSA de baixo nível.

Aparência típica de microorganismos

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) → aumentou para malva *Staphylococcus aureus* suscetível à meticilina (MSSA) → inibido Outras bactérias → azul, incolor ou inibido

Anexo 2- Catálogo Frilabo do meio de cultura CHROMagar ECC



SKU: EF322

Descrição Benefícios

Para a detecção e enumeração simultânea de *E. coli* e outros coliformes em amostras de alimentos ou água

Coliformes, Enterobacteriaceae capazes de fermentar lactose (Enterobacteriaceae lactose positiva) são bactérias presentes na flora intestinal humana e de animais de sangue quente, no solo e na água. Os coliformes são propícios à contaminação orgânica, ambiental ou fecal. A contaminação fecal, por coliformes provenientes de dejetos animais, consiste principalmente de *Escherichia coli* e *Klebsiella* termotolerante. Existem regulamentos rigorosos para a presença de *E. coli* / Coliformes em amostras de água e alimentos. Isso pode ser explicado pela importância desses germes na determinação da segurança hídrica e alimentar.

O monitoramento da produção de alimentos e água é essencial. A alta contaminação pode levar à suspensão do abastecimento de água e recall de alimentos pelos supermercados.

O meio CHROMagar ECC é uma excelente escolha para monitorar fontes de contaminação, pois permite a detecção e diferenciação simultâneas entre *E. coli* e Coliformes.

Aparência típica de microrganismos

E. coli → azul

Outros Coliformes → malva

Outras bactérias → incolor ou inibido

Anexo 3 – Catálogo Oxoid™ Thermo Fisher™ do meio de cultura SS Modified



ThermoFisher
SCIENTIFIC

Pesquisar tudo ▼ Pesquise por número de catálogo, nome do produto

Visão geral do produto Documentos

suspeita de abrigar patógenos entéricos, por exemplo, amostras médicas ou produtos alimentícios.

- **Fácil de ler:** as shigellas formam colônias transparentes enquanto as salmonelas formam colônias transparentes com centros pretos
- **Seletivo:** componentes inibitórios seletivos verde brilhante, sais biliares, tiosulfato e citrato inibem organismos Gram-positivos e coliformes não-alvo.

Embora amplamente utilizado, o SS Agar tem sido criticado por causa da inibição excessiva das espécies de *Shigella*.

A investigação mostrou que a modificação da formulação por alterações na mistura de sais biliares, peptona e valor de pH melhoram consideravelmente seu desempenho no crescimento de shigellas sem aumentar muito o crescimento de organismos comensais.

As colônias de *Salmonella* também são maiores com escurecimento melhorado no centro. A mudança na formulação reduziu o número de g/L de 63g para 57g.

Nem todos os produtos estão disponíveis para venda em todos os territórios. Por favor, pergunte.

Os produtos Remel™ e Oxoid™ agora fazem parte da marca Thermo Scientific.

Anexo 4- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA no armazém.

CHROMagar MRSA		
Zona 1- Armazém		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	12
M2	0	2
M3	0	1
M4	0	33
M5	0	7
M6	1	19
M7	0	4
M8	0	0
M10	0	17
M11	0	4
M12	0	736
M13	0	9
M14	2	47
M15	0	1
Total UFC	3	892

Anexo 5- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA no armazém.

CHROMagar MRSA		
Zona 1- Armanzém		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	12
M2	0	2
M3	0	4
M4	0	206
M5	1	56
M6	1	23
M7	0	5
M8	0	135
M10	0	20
M11	0	11
M12	0	754
M13	0	9
M14	3	87
M15	0	7
Total UFC	5	1331

Anexo 6- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA na zona de pagamento.

CHROMagar MRSA		
Zona 2- Pagamento		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	1
M2	0	5
M3	0	25
M4	0	51
M5	0	231
M6	0	29
M7	0	13
M8	0	0
M9	0	4
M10	0	8
M11	0	180
M12	2	139
M13	2	16
M14	0	0
M15	0	0
Total UFC	4	702

Anexo 7- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA na zona de pagamento.

CHROMagar MRSA		
Zona 2- Pagamento		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	7
M2	0	5
M3	0	64
M4	0	51
M5	0	257
M6	0	61
M7	0	13
M8	0	2
M9	0	10
M10	0	10
M11	0	180
M12	5	194
M13	2	168
M14	1	40
M15	0	0
Total UFC	8	1062

Anexo 8- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar MRSA nas frutas.

CHROMagar MRSA		
Zona 3- Frutas		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	1
M2	2	2
M3	3	13
M4	8	196
M5	0	15
M6	1	72
M7	2	122
M8	0	0
M9	0	7
M10	0	1
M11	4	16
M12	0	8
M13	5	50
M14	1	2
M15	0	0
Total UFC	26	505

Anexo 9- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar MRSA nas frutas.

CHROMagar MRSA		
Zona 3- Frutas		
Mercearias	MRSA	Outras Bactérias
M1	0	7
M2	2	200
M3	10	192
M4	8	198
M5	0	15
M6	1	77
M7	2	150
M8	2	13
M9	1	36
M10	0	34
M11	4	21
M12	0	17
M13	8	132
M14	2	210
M15	0	0
Total UFC	40	1302

Anexo 10- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC no armazém.

CHROMagar ECC			
Zona 1- Armazém			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras Bactérias
M1	0	0	78
M2	0	0	64
M3	0	0	18
M4	0	0	1
M5	0	0	0
M6	0	0	200
M7	0	0	1
M8	0	0	90
M10	0	0	200
M11	0	0	0
M12	0	0	178
M13	0	0	0
M15	0	0	203
Total UFC	0	0	1033

Anexo 11- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC no armazém.

CHROMagar ECC			
Zona 1- Armazém			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras Bactérias
M1	0	0	90
M2	0	0	70
M3	0	0	218
M4	0	0	3
M5	0	0	400
M6	0	0	200
M7	0	0	1
M8	1	0	97
M10	0	0	200
M11	0	0	1
M12	0	0	178
M13	0	0	0
M14	0	0	201
M15	0	0	403
Total UFC	1	0	2062

Anexo 12- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC na zona de pagamento.

CHROMagar ECC			
Zona 2- Zona de Pagamento			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras Bactérias
M1	0	0	22
M2	0	0	35
M3	0	3	14
M4	0	0	21
M5	200	0	0
M6	0	0	1
M7	0	0	35
M8	0	0	200
M9	0	0	7
M10	0	0	0
M11	0	0	204
M12	0	0	200
M13	0	0	200
M14	0	0	0
M15	0	0	2
Total UFC	200	3	941

Anexo 13- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC na zona de pagamento.

CHROMagar ECC			
Zona 2- Zona de Pagamento			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras bactérias
M1	0	0	38
M2	0	0	35
M3	0	3	73
M4	0	0	107
M5	200	0	3
M6	0	0	10
M7	0	0	35
M8	0	0	200
M9	0	0	64
M10	0	0	200
M11	0	0	211
M12	0	0	209
M13	0	0	213
M14	0	0	0
M15	0	0	200
Total UFC	200	3	1598

Anexo 14- Tabela com leitura 24h do meio CHROMagar ECC nas frutas

CHROMagar ECC			
Zona 3- Frutas			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras Bactérias
M1	0	0	8
M2	0	0	4
M3	0	0	52
M4	0	0	9
M5	0	0	4
M6	0	0	229
M7	0	0	5
M8	0	0	0
M9	0	11	200
M10	0	0	0
M11	0	0	369
M12	0	0	200
M13	1	0	108
M14	0	0	200
M15	0	0	0
Total UFC	1	11	1388

Anexo 15- Tabela com leitura 48h do meio CHROMagar ECC nas frutas

CHROMagar ECC			
Zona 3- Frutas			
Mercearias	E.coli	Coliformes	Outras Bactérias
M1	0	0	8
M2	0	0	4
M3	0	0	52
M4	0	0	9
M5	0	0	4
M6	0	0	229
M7	0	0	5
M8	0	0	0
M9	0	11	200
M10	0	0	0
M11	0	0	369
M12	0	0	200
M13	1	0	108
M14	0	0	200
M15	0	0	0
Total UFC	1	11	1388

Anexo 16- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified no armazém

SS Modified Agar			
Zona 1- Armazém			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	0
M3	0	0	0
M4	0	0	0
M5	0	0	0
M6	0	0	2
M7	0	0	0
M8	0	0	0
M10	0	0	0
M11	0	0	0
M12	0	0	200
M13	0	0	0
M14	0	0	0
M15	0	0	54
Total UFC	0	0	256

Anexo 17- Tabela com leitura 48h do meio SS Modified no armazém

SS Modified Agar			
Zona 1-Armazém			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	0
M3	0	0	0
M4	0	0	1
M5	0	0	1
M6	0	0	2
M7	0	0	0
M8	0	0	0
M10	0	0	0
M11	0	0	0
M12	0	0	200
M13	0	0	0
M14	0	0	2
M15	0	0	71
Total UFC	0	0	277

Anexo 18- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified na zona de pagamento

SS Modified Agar			
Zona de Pagamento			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	1
M3	0	0	5
M4	0	0	0
M5	0	0	200
M6	0	0	0
M7	0	0	2
M8	0	0	0
M9	0	0	11
M10	0	0	0
M11	0	0	200
M12	0	0	200
M13	0	0	200
M14	0	0	0
M15	0	0	0
Total UFC	0	0	819

Anexo 19- Tabela com leitura 48h do meio SS Modified na zona de pagamento

SS Modified Agar			
Zona de Pagamento			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	1
M3	0	0	6
M4	0	0	0
M5	0	0	200
M6	0	0	2
M7	0	0	2
M8	0	0	0
M9	0	0	12
M10	0	0	0
M11	0	0	200
M12	0	0	200
M13	0	0	200
M14	0	0	200
M15	0	0	0
Total UFC	0	0	1023

Anexo 20- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified nas frutas

SS Modifeid agar			
Zona de Frutas			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	0
M3	0	0	0
M4	0	0	1
M5	0	0	1
M6	0	0	113
M7	0	0	2
M8	0	0	0
M9	0	0	200
M10	0	0	0
M11	0	0	206
M12	0	0	0
M13	0	0	158
M14	0	0	200
M15	0	0	0
Total UFC	0	0	881

Anexo 21- Tabela com leitura 24h do meio SS Modified nas frutas

SS Modifeid agar			
Zona deFrutas			
Mercearias	Salmonella	Shigella	Outras Bactérias
M1	0	0	0
M2	0	0	0
M3	0	0	13
M4	0	0	10
M5	0	0	1
M6	0	0	115
M7	0	0	3
M8	0	0	0
M9	0	0	200
M10	0	0	0
M11	0	0	208
M12	0	0	0
M13	0	0	172
M14	0	0	200
M15	0	0	0
Total UFC	0	0	922

Anexo 22- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados associados a Estafilococos coagulase positiva, *E.coli* patogénica em alimentos.

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) Nota 1			
	Satisfatório	Não satisfatório	Não satisfatório/ potencialmente perigoso	Testes de referência
<i>Bacillus cereus</i> Nota 2	<10 ³	10 ³ – ≤10 ⁵	>10 ⁵	Confirmar a capacidade de produzir toxina, tipificação molecular
Outros <i>Bacillus</i> spp. patogénicos	<10 ⁴	10 ⁴ – ≤10 ⁶	>10 ⁶	Tipificação molecular
<i>Clostridium perfringens</i>	<10 ²	10 ² – ≤10 ⁴	>10 ⁴	Tipificação molecular, deteção do gene codificador da toxina na estirpe isolada
<u>Estafilococos coagulase positiva</u>	<10	10 ² – ≤10 ⁴	>10 ⁴	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 ²	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
<u><i>Escherichia coli</i> patogénicos (EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC)</u>	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

Anexo 23- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados de coliformes como Enterobacteriaceae em alimentos (grupo/subgrupo2A).

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
<i>Enterobacteriaceae</i> a 37 °C	1A, 1B	$<10^2$	$10^2 - \leq 10^3$	$>10^3$
	1D	Não detetado em 10 ml ou em 10 g Nota 3	Detetado em 10 ml ou em 10 g e $\leq 10^2$	$>10^2$
	2A	$<10^3$	$10^3 - \leq 10^4$	$>10^4$

Anexo 24- Tabela adaptada do “Valores-guia INSA” para interpretação dos resultados de coliformes como Enterobacteriaceae, Estafilococos coagulase positiva e *E.coli* em superfície (2A).

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> /Estafilococos 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 ² ou ≤ 1 ufc/ml de capacidade da peça	< 10 ufc/peça ou < 10 ufc/100 cm ² (inferior ao limite de deteção)	< 10 ufc/peça ou < 10 ufc/100 cm ² (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 ²	$< 10^2$ ufc/100 cm ²	< 10 ufc/100 cm ² (inferior ao limite de deteção)
		B - Logo após o processo de lavagem/higienização	$\leq 10^2$ ufc/100 cm ²	< 10 ufc/100 cm ²	< 10 ufc/100 cm ² (inferior ao limite de deteção)