

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**“AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA HIGIENIZAÇÃO  
DAS MÃOS EM MANIPULADORES DE ALIMENTOS”**

VERA LÚCIA PATRÍCIO VIEIRA PEREIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOLOGIA MOLECULAR E MICROBIANA

2011

FARO

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

**“AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA HIGIENIZAÇÃO  
DAS MÃOS EM MANIPULADORES DE ALIMENTOS”**

VERA LÚCIA PATRÍCIO VIEIRA PEREIRA

N.º 29777

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOLOGIA MOLECULAR E MICROBIANA

DISSERTAÇÃO ORIENTADA POR:

Prof<sup>ª</sup> Doutora Lúcia Dionísio

2011

FARO

O conteúdo deste trabalho é da inteira e exclusiva responsabilidade da autora

Vera Lúcia Vieira Pereira

---

(Vera Pereira)

## **Agradecimentos**

Gostaria de prestar os meus sinceros agradecimentos, por terem permitido a realização deste trabalho e por toda a relevância durante a sua execução, às seguintes pessoas:

À Professora Lídia Dionísio por me ter orientado, apoiado e motivado.

À Dra. Cecília Silva por me ter permitido realizar este estudo no laboratório do Aqualab.

Ao pessoal técnico do Laboratório de Microbiologia do Aqualab por tudo o que me ensinaram, em especial à Cátia Pinto pela sua disponibilidade em ajudar-me ao longo de todo o trabalho.

À cadeia hoteleira onde este estudo se realizou, especialmente ao departamento de qualidade e ao *Chef*, por me facultarem a recolha das amostras.

A todos os participantes pela paciência e compreensão que demonstraram durante toda a amostragem.

À minha família e ao meu namorado, por me apoiarem incondicionalmente e me motivarem sempre a dar o meu melhor.

Muito obrigada a todos!

## Resumo

A higienização das mãos dos manipuladores de alimentos revela-se de extrema importância considerando que a contaminação dos alimentos ocorre, muitas vezes, por microrganismos presentes nas suas mãos.

A presença de microrganismos nas mãos está muitas vezes relacionada com práticas de higiene inadequadas, o que sugere uma falta de formação dos profissionais, principalmente na área da restauração.

O presente trabalho teve como objetivo contribuir para a eficiência dos procedimentos de higienização das mãos praticados por manipuladores de alimentos. Com vista a esse fim, este trabalho pretendeu: otimizar um protocolo de higienização testando diferentes agentes de desinfecção e comparando-os; otimizar o procedimento de amostragem selecionando o método mais reprodutível/viável para utilização em rotina; propor critérios de apreciação da eficiência de higienização das mãos para a amostra alvo.

Recolheram-se amostras antes e após a higienização das mãos e analisou-se a presença de diferentes microrganismos. Os mais frequentes, e com maior número de contagens microbianas, foram os mesófilos aeróbios, apresentando valores máximos de  $9,50 \times 10^5$  UFC/mão antes e de  $9,30 \times 10^4$  UFC/mão após lavagem das mãos. Amostras com presença de coliformes totais e *Staphylococcus aureus* foram observadas em menor número e apresentaram contagens máximas elevadas, respetivamente  $1,98 \times 10^5$  e  $3,60 \times 10^2$  UFC/mão antes, e  $2,00 \times 10$  e  $2,20 \times 10^2$  UFC/mão após higienização das mãos. Os resultados obtidos, com exceção para *S. aureus*, evidenciaram uma maior eficácia na redução da contaminação quando a higienização das mãos é feita usando dois agentes. Concluiu-se também que a recolha da amostra em várias zonas da mão é importante para se obter informação mais realista sobre o nível de contaminação. As elevadas concentrações microbianas registadas neste estudo salientam a importância da implementação de programas de formação dos manipuladores, nos quais deverão ser abordados temas como a influência da higienização das mãos na qualidade sanitária dos alimentos e a forma como esta deve ser praticada.

**Palavras-chave:** indústria alimentar, contaminação cruzada, higiene das mãos, microrganismos indicadores de higiene, agentes de higienização, microbiota transitória, microbiota residente

## Abstract

Hand hygiene of food handlers revealed extremely important considering that food contamination often occurs by microorganisms on their hands.

The presence of microorganisms on hands is often related to poor hygiene practices, suggesting a lack of training of professionals, mainly in the restaurant area.

This study aimed to contribute to the efficiency of procedures for hand hygiene practiced by food handlers. With a view to this end, this work aims: to optimize a protocol for testing different cleaning agents for disinfection and comparing them; optimize the sampling procedure by selecting a more reproducible/feasible method for routine, to propose criteria for assessing the efficiency of hand cleaning to the sample target.

Samples were taken before and after hand washing and analyzed for the presence of different microorganisms. The most frequent and with higher number of microbial counts were the aerobic mesophiles, with maximum values of  $9.50 \times 10^5$  CFU/hand before and  $9.30 \times 10^4$  CFU/hand after hand washing. Samples with total coliforms and *Staphylococcus aureus* were found in smaller numbers and presented high peak counts, respectively  $3.60 \times 10^2$  and  $1.98 \times 10^5$  CFU/hand before, and  $2.00 \times 10^2$  and  $2.20 \times 10^2$  CFU/hand after hand hygiene. The results, except those for *S. aureus*, showed greater effectiveness in reducing contamination when hand hygiene is performed using two agents. It was also concluded that the sampling in various parts of the hand is important to get a more realistic information about the level of contamination. The high microbial concentrations recorded in this study stressed the importance of implementing training programs for food handlers, in which issues should be addressed as the influence of hand hygiene in health quality of food and how it should be practiced.

**Key-words:** food industry, cross-contamination, hand hygiene, hygiene indicator microorganisms, cleaning agents, transient microbiota, resident microbiota

## ÍNDICE

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES .....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	vii
I. OBJECTIVOS .....	1
II. INTRODUÇÃO.....	2
1. Revisão bibliográfica .....	3
1.1.Enquadramento histórico .....	3
1.1.1.  Ensinamentos do passado .....	4
1.1.2.  A higiene das mãos na atualidade.....	5
1.2.Higiene Pessoal na Indústria Alimentar.....	6
1.2.1.  Higiene das mãos .....	6
1.2.1.1.  Quando lavar as mãos .....	7
1.2.1.2.  Onde e como lavar as mãos.....	7
1.2.1.3.  Condições para uma correta higiene das mãos.....	8
1.2.1.3.1.  Agentes de higienização.....	8
1.2.1.3.2.  Secagem das mãos.....	9
1.2.1.3.3.  Utilização de luvas e outras medidas de proteção.....	10
1.3.Microrganismos .....	11
1.3.1.  Microbiota da pele .....	11
1.3.2.  Microrganismos indicadores de higiene .....	12
1.3.2.1.  Mesófilos aeróbios totais.....	12
1.3.2.2.  Coliformes totais .....	13
1.3.2.3. <i>Escherichia coli</i> .....	13
1.3.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
1.4.Perigos e doenças alimentares .....	15
1.4.1.  Conceito de perigo .....	15

1.4.1.1.	Classificação de perigos .....	15
1.4.1.2.	Fatores de perigo biológico .....	16
1.4.1.3.	Severidade dos perigos biológicos .....	16
1.4.2.	Doenças transmitidas por alimentos .....	18
1.4.2.1.	Agentes patogénicos na origem de surtos alimentares .....	20
1.4.3.	Medidas de controlo dos perigos .....	21
1.4.4.	Critérios microbiológicos .....	22
III.	MATERIAL E MÉTODOS .....	24
1.	Material .....	24
2.	Equipamento .....	24
3.	Meios de cultura e reagentes.....	24
4.	Amostragem.....	25
4.1.	Condições disponíveis para a higienização das mãos dos colaboradores.	26
5.	Método de recolha .....	27
6.	Processamento das amostras .....	28
7.	Microrganismos e meios de cultura .....	29
7.1.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
7.2.	<i>E. coli</i> e coliformes totais .....	30
7.3.	Mesófilos aeróbios totais .....	30
8.	Tratamento dos dados .....	31
IV.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
1.	Microrganismos mesófilos aeróbios .....	32
2.	<i>Escherichia coli</i> e coliformes totais.....	39
3.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	41
4.	Análise de Variância (ANOVA): dois fatores .....	46
5.	Análise da distribuição dos resultados.....	53
6.	Discussão geral dos resultados .....	55
V.	CONCLUSÕES .....	58
VI.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62
VII.	ANEXOS .....	68



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras de três zonas da mão com higienização completa (A1). .....	32
Figura 2 – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras apenas da palma da mão com higienização completa (B1). .....	33
Figura 3 – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras de três zonas da mão com higienização parcial (A2). .....	33
Figura 4 – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras da palma da mão com higienização parcial (B2). .....	34
Figura 5 – Médias logarítmicas das contagens de mesófilos aeróbios antes e após a higienização, para cada tipo de recolha. ....	38
Figura 6 – <i>S. aureus</i> em amostras de três zonas da mão com higienização completa (A1) .....	42
Figura 7 - <i>S. aureus</i> em amostras apenas da palma da mão com higienização completa (B1) .....	42
Figura 8 - Médias logarítmicas das contagens de <i>S. aureus</i> antes e após a higienização, para cada tipo de recolha. ....	45
Figura 9 - Gráficos de perfil de resposta referentes a mesófilos aeróbios .....	51
Figura 10 - Gráficos de perfil de resposta referentes a coliformes totais .....	52
Figura 11 - Gráficos de perfil de resposta referentes a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
Figura 12 - Gráfico de caixas e bigodes relativo à distribuição dos resultados de mesófilos aeróbios .....	54
Figura 13 - Gráfico de caixas e bigodes relativo à distribuição dos resultados de <i>S. aureus</i> .....	55

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de perigos biológicos com base na sua severidade para a saúde do consumidor (adaptado de Batista e Venâncio, 2003). .....	17
Tabela 2 – Condições para a ocorrência de alguns perigos biológicos (adaptado de Batista e Venâncio, 2003). .....	20
Tabela 3 – Amostras nas quais foram quantificados microrganismos mesófilos aeróbios com valores superiores ao limite (4 log UFC/mão). .....	37
Tabela 4 – Amostras nas quais foram quantificados coliformes totais com valores superiores ao limite (3 log UFC/mão). .....	40
Tabela 5 – Médias logarítmicas das contagens de coliformes totais antes e após a higienização, para cada tipo de recolha. ....	41
Tabela 6 – Amostras nas quais foram quantificadas bactérias da espécie <i>S. aureus</i> com valores superiores ao limite (2 log UFC/mão). .....	44
Tabela 7 - Estatística descritiva referente a mesófilos aeróbios .....	47
Tabela 8 - Estatística descritiva referente a coliformes totais .....	48
Tabela 9 - Estatística descritiva referente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	48
Tabela 10 – Resultados do teste ANOVA a dois fatores .....	50
Tabela 11 – Médias logarítmicas, e correspondentes desvios-padrão, dos valores obtidos em todos os tipos de recolha, para todos os grupos de microrganismos pesquisados ....	58

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1. a) Área da mão amostrada em recolhas de tipo B1 e B2. b) Área da mão amostrada em recolhas de tipo A1 e A2. ....	25
--	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Ficha de registo do estado das mãos dos manipuladores. ....	68
---	----

## **I. OBJECTIVOS**

Este estudo teve como objetivo principal avaliar a eficiência da higienização das mãos por manipuladores de alimentos, e desenvolveu-se através das seguintes etapas:

- Otimização de um protocolo de higienização de mãos selecionando e comparando diferentes agentes de desinfecção e enumerando determinados microrganismos antes e após a higienização;
- Otimização do procedimento de amostragem selecionando um método de amostragem com melhor reprodutibilidade/viabilidade de utilização em rotina, e elaborando uma ficha de identificação do estado das mãos dos manipuladores.
- Propor critérios quantitativos de apreciação da eficiência de higienização das mãos para a amostra alvo com base nos estudos efetuados e na bibliografia disponível, no âmbito da manipulação alimentar.

## II. INTRODUÇÃO

O processamento de alimentos surgiu com a necessidade de prolongar o tempo de vida dos alimentos de forma a permitir que estes chegassem ao consumidor, e fossem consumidos, antes da sua deterioração. A degradação dos alimentos ocorre devido à ação de microrganismos que os utilizam como fonte de nutrientes e que os transformam podendo torná-los impróprios para o consumo humano. Este processo ocorre porque os alimentos são facilmente contaminados com microrganismos presentes no ambiente durante a sua manipulação e processamento (Cunha, 2006). Por vezes, pode não ser visível a degradação do alimento, mas este já estar tão contaminado que a sua ingestão poderá levar ao desenvolvimento de doenças no consumidor, podendo mesmo, em situações extremas, causar a sua morte. Esta situação poderá acontecer quando existe contaminação por determinados microrganismos patogénicos (Baptista e Venâncio, 2003). Por estes motivos, deve-se ter sempre em consideração o potencial de desenvolvimento deste tipo de microrganismos durante o processamento de alimentos. Tendo em conta o nível inicial de contaminação das matérias-primas, deve-se, assim, estabelecer este processo de forma a garantir a segurança dos produtos após o seu processamento (Baptista e Venâncio, 2003). Para este efeito foram desenvolvidas medidas de controlo como o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo/HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*), o qual permite fazer um levantamento não só dos perigos biológicos, mas também físicos e químicos, que podem ocorrer durante o processamento de um alimento e, durante a produção, controlá-los nos Pontos Críticos de Controlo (PCC) (Cunha, 2006).

Apesar da degradação dos alimentos ser um processo natural e inevitável com o passar do tempo, se estes não forem consumidos dentro do seu prazo de validade, ou se forem expostos a determinadas condições viáveis ao crescimento de microrganismos, os alimentos podem ainda ser contaminados por contaminação cruzada. Esta pode ocorrer devido a inadequadas práticas de higiene, tanto ao nível pessoal como ao nível dos equipamentos e utensílios utilizados na produção e manipulação de alimentos. A higiene pessoal dos manipuladores, por si só, é fulcral no controlo da proliferação de surtos de doenças alimentares, pois as mãos são um importante veículo de transmissão de microrganismos para os alimentos durante a sua confeção. De facto, a contaminação

das mãos tem sido a causa de muitos surtos de origem alimentar (Hansen e Knøchel, 2003). O manipulador é, assim, um importante fator que deve ser controlado para garantir a segurança dos alimentos. Seja doente ou portador assintomático, ele é responsável por até 26% dos surtos de doenças veiculadas por alimentos, devido a práticas de higiene inadequadas ou à utilização de métodos anti-higiênicos, durante a preparação dos alimentos (Coelho *et al.*, 2010).

Hoje em dia, com o crescente aumento do hábito de efetuar refeições fora de casa (Coelho *et al.*, 2010), torna-se cada vez mais importante controlar a segurança dos alimentos em restaurantes e superfícies afins. Apesar dos sistemas HACCP estarem, atualmente, bem implementados em fábricas de processamento de alimentos, permitindo o aumento dos seus padrões de higiene alimentar, ainda não foi possível atingir este nível de desenvolvimento em restaurantes e estabelecimentos semelhantes, e a formação dos trabalhadores nestas áreas é quase inexistente (Ancipa *et al.*, 2006).

A deficiência no controlo dos padrões higiénico-sanitários é, assim, uma das responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos. Uma das formas de fazer o controlo da qualidade e segurança dos alimentos seria através da implementação de métodos de higienização adequados, da monitorização da sua eficácia, e da formação dos trabalhadores. Para tal, é necessário que se continue a investigar quais os agentes de higienização das mãos mais eficientes, e quais os melhores métodos de recolha de amostras, para uma monitorização pontual da eficiência e do cumprimento de práticas de higiene por parte dos manipuladores de alimentos.

## **1. Revisão bibliográfica**

### **1.1. Enquadramento histórico**

Há vários séculos que se reconhece a importância da higiene das mãos como uma medida de promoção da higiene pessoal e da saúde pública (Sickbert-Bennet *et al.*, 2005). Porém, durante muito tempo, a lavagem das mãos era apenas um ritual religioso

ou cultural, com uma preocupação estética mas não de prevenção de infecções (Jumaa, 2005).

### **1.1.1. Ensinaamentos do passado**

A ideia da existência de uma associação entre higiene e saúde já era reconhecida no século IV a.C., altura em que foi elaborada a versão original do Juramento Hipocrático, no qual o médico jura por Hygieia, entre outros Deuses, defender os princípios do juramento. Na mitologia grega Hygieia representava a deusa da limpeza e do saneamento, e era a primeira a dar assistência na prevenção da doença e promoção da saúde. Esta deusa foi adoptada com o nome Salus pelos Romanos. Desta forma, os nossos termos *higiene* e *salvação* derivam de Hygieia e Salus, respetivamente, mostrando a relação anciã entre ambos os conceitos (Delaney e Gunderman, 2008).

No século XII, em Espanha, Moses Maimonides, médico judeu, defendeu a prática da higiene das mãos pelos praticantes de medicina (Santos, 2002), porém, a falta de relatos microbiológicos e epidemiológicos conduziram esta ideia ao seu declínio (Delaney e Gunderman, 2008). Durante vários séculos, os hábitos de higiene, usando apenas água e sabão, tiveram como objetivo apenas cuidar da aparência (Santos, 2002; Boyce e Pittet, 2002), não passavam de antigos costumes culturais (Wendt, 2001). Apenas no século XIX, nos anos 1840, um obstetra austríaco, Ignaz Semmelweis, conseguiu provar a relação entre a lavagem das mãos e a diminuição do número de mortes de mulheres devido a febre puerperal (Delaney e Gunderman, 2008). Ele reparou que os médicos e estudantes de medicina passavam diretamente da sala de autópsias para as salas de parto, e que apesar de lavarem as mãos com água e sabão, estas emanavam um cheiro bastante desagradável. Semmelweis sugeriu então que as partículas dos cadáveres que permaneciam nas mãos dos médicos e estudantes após as autópsias eram a causa do elevado número de casos de febre puerperal. Ele insistiu que tanto médicos como estudantes deveriam passar as mãos por uma solução de hipoclorito de cálcio após a sua lavagem com água e sabão entre a observação de cada paciente. A escolha desta solução poderia estar relacionada com o efeito desodorizante dos compostos do cloro (Pittet e Boyce, 2001; Boyce e Pittet, 2002). Esta observação feita por Semmelweis foi a primeira evidência de que lavar as mãos, altamente contaminadas, com um agente antisséptico permite uma maior redução de doenças

associadas aos cuidados de saúde do que a lavagem apenas com água e sabão (Boyce e Pittet, 2002).

Em França, as evidências de Semmelweis não eram bem conhecidas, e muitos médicos ridicularizavam a ideia de que as suas mãos fossem veículos de transmissão de doenças. Porém, em 1847, na Academia de Medicina em Paris, Louis Pasteur afirmou que o que matava as mulheres com febre puerperal eram os médicos ao transportarem microrganismos de mulheres doentes para mulheres saudáveis (Delaney e Gunderman, 2008). Pasteur desenvolveu a teoria do germe e a sua relação com doenças, tendo sido ele também quem identificou o microrganismo responsável pela febre puerperal (*Streptococcus pyogenes*) (Delaney e Gunderman, 2008).

### **1.1.2. A higiene das mãos na atualidade**

As observações levadas a cabo por Semmelweis permitiram um melhor entendimento da importância da higiene das mãos no controlo de doenças infecciosas, e a partir destas, outros estudos foram desenvolvidos. Hoje é um facto que as mãos são um importante veículo de transmissão de infeções e que a sua higienização é a forma mais eficiente de evitar a proliferação dos microrganismos e das infeções a estes associadas (Shojaei *et al.*, 2006; Raddi *et al.*, 1988). Os primeiros trabalhos desenvolvidos nesta área estavam relacionados com a transmissão de doenças contraídas em ambiente hospitalar através de profissionais de saúde. Porém, hoje em dia sabe-se que as mãos de manipuladores de alimentos são também importantes veículos de contaminação cruzada de alimentos, o que constitui uma preocupação não apenas ao nível da indústria alimentar mas também ao nível da comunidade e do ambiente doméstico (Shojaei, Shooshtaripoor e Amiri, 2006; Jumaa, 2005). Desta forma é muito importante que se consiga melhorar as práticas de higiene a todos estes níveis, pois apesar dos conhecimentos atuais, ainda continuam a surgir surtos de doenças infecciosas associadas à falta de higiene.

## 1.2. Higiene Pessoal na Indústria Alimentar

### 1.2.1. Higiene das mãos

Considerada, pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)<sup>1</sup>, como uma das formas mais eficazes de prevenir a transmissão de doenças, uma adequada higiene das mãos tem a capacidade de remover microrganismos patogénicos das mãos e impedir a transmissão de doenças infecciosas de pessoa para pessoa (Sickbert-Bennet *et al.*, 2005). Estudos realizados por esta agência (CDC) sugerem que 20% dos casos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos têm origem nos manipuladores (U.S. Food and Drug Administration, 2000 *apud* Greig *et al.*, 2007).

Na indústria alimentar, uma higiene pessoal descuidada por parte dos manipuladores irá aumentar a probabilidade de contaminação dos alimentos, durante a sua preparação, devido a contaminação cruzada. Esta contaminação ocorre devido ao facto das mãos estarem constantemente em contacto com o ar, serem utilizadas para manipular equipamentos e utensílios, poderem contactar com partes do corpo ou superfícies que não estejam devidamente limpas, e serem depois usadas na confeção dos alimentos. A falta de higiene por parte dos manipuladores pode levar ao desenvolvimento de condições favoráveis para a multiplicação de microrganismos, podendo conduzir ao aparecimento de doenças graves em consumidores. Desta forma, qualquer manipulador de alimentos deve adotar práticas de higiene pessoal adequadas às suas funções, ter comportamentos adequados, e seguir todas as regras adotadas pela instituição empregadora (Batista e Saraiva, 2003).

Foram vários os fatores observados por Greig *et al.* (2007), num estudo de revisão do papel dos manipuladores de alimentos em surtos alimentares, que contribuíram para a ocorrência de surtos associados aos manipuladores, entre os quais:

- Contaminação cruzada por ingredientes crus de origem animal;
- Contacto das mãos do manipulador, sem luvas, com o alimento;
- Contacto das mãos do manipulador, com luvas, com o alimento;
- Manipulação dos alimentos por uma pessoa portadora ou infetada com um microrganismo patogénico;

---

<sup>1</sup> Centers for Disease Control and Prevention. Acedido a 30 de Agosto de 2011, disponível em <http://www.cdc.gov/Features/HandWashing/>



- Falha na prática de uma higiene adequada das mãos.

Todos estes fatores mostraram o quanto é importante que os manipuladores sejam consciencializados da necessidade de se lavar as mãos sempre que necessário, e de uma forma adequada, de forma evitar a contaminação dos alimentos.

#### **1.2.1.1. Quando lavar as mãos**

As mãos devem ser lavadas após todas as situações que comprometam a sua higiene: antes de se iniciar o dia de trabalho e após cada intervalo; sempre que se utiliza a casa de banho; após a manipulação de equipamentos sujos, sacos do lixo, restos de produtos alimentares, embalagens, produtos químicos ou de limpeza; imediatamente antes de se manipular alimentos ou cada vez que se mude de tarefa; após se tocar em qualquer parte do corpo; depois de se assoar, tossir, espirrar, fumar, comer ou beber (Batista e Saraiva, 2003; Ancipa *et al.*, 2006), ou qualquer outra situação em que o trabalhador tenha dúvidas quanto à necessidade de lavagem das mãos, através da adoção do Princípio da Precaução (Batista e Saraiva, 2003).

#### **1.2.1.2. Onde e como lavar as mãos**

A lavagem das mãos é considerada um dos procedimentos mais eficazes no controlo da proliferação de organismos patogénicos, quando executada de forma adequada (Montville, Chen e Schaffner, 2002). Os objetivos da lavagem das mãos são, não só eliminar rapidamente e com a maior eficácia possível a microbiota transitória, mas também ter uma ação antimicrobiana persistente sobre a microbiota residente (Jumaa, 2005). Para que haja uma maior eficiência neste procedimento e um menor risco de contaminação das mãos, estas devem ser lavadas num lavatório apenas usado para esse fim, de preferência com comando acionado pelo joelho ou pelo pé (Batista e Saraiva, 2003). As mãos devem ser lavadas com água quente corrente, pois é a melhor forma de remover bactérias, gordura e sujidade (Ancipa *et al.*, 2006). Todas as zonas das mãos devem ser cuidadosamente lavadas, como os espaços entre os dedos, as costas das mãos, o polegar, e as unhas (Batista e Saraiva, 2003). Sempre que necessário as unhas devem ser escovadas, pois a região sob estas é relativamente inacessível aos

detergentes durante a lavagem das mãos, sendo por isso uma região onde se acumula um número de bactérias significativo, podendo ter um papel importante na transmissão de microrganismos pelas mãos (McGinley, Larson e Leyden, 1988).

Todas as condições mencionadas devem ser tidas em elevada consideração pela entidade patronal, pois a inexistência de instalações adequadas para a higiene das mãos e um procedimento de lavagem das mãos inadequado são dois dos fatores mais frequentes que contribuem para a ocorrência de surtos de doenças de origem alimentar por falhas na higiene pessoal (Todd *et al.*, 2007).

### **1.2.1.3. Condições para uma correta higiene das mãos**

Há vários fatores relacionados com o processo de lavagem das mãos que podem afetar a contagem de microrganismos, tais como o sabão e o desinfetante usados, e o método de secagem das mãos (Montville *et al.*, 2002).

#### **1.2.1.3.1. Agentes de higienização**

Na indústria alimentar, muitas vezes a lavagem das mãos é feita recorrendo ao uso de dois agentes, primeiro um sabão e depois um desinfetante à base de álcool. Estudos mostram que estes desinfetantes, sozinhos, podem ser tão eficazes como lavar as mãos, mas apenas em algumas circunstâncias, pois o seu uso não é apropriado quando as mãos estão visivelmente sujas, porque a sujidade diminui a eficácia do desinfetante (Simonne, 2005). Assim, é necessário lavar primeiro as mãos com sabão, e o uso do desinfetante depois da secagem poderá permitir uma maior remoção de microrganismos.

Para a higienização das mãos pode-se usar sabão normal ou sabão antibacteriano. Os sabões, devido às suas propriedades detergentes, têm a capacidade de remover sujidade e várias substâncias orgânicas das mãos. Um sabão simples tem uma capacidade muito reduzida de remoção da microbiota transitória, mas um sabão antimicrobiano contém agentes antissépticos que têm uma elevada capacidade de reduzir a microbiota da pele (Boyce e Pittet, 2002), sendo por isso mais eficientes na higienização das mãos.

Após secagem das mãos o uso de um desinfetante à base de álcool pode ser uma contribuição importante na remoção de microrganismos. Os álcoois têm atividade antimicrobiana devido à sua capacidade de desnaturar as proteínas dos microrganismos, e após o seu uso o reaparecimento de bactérias na pele é mais lento devido à sua atividade residual. Estes desinfetantes têm uma ação rápida e eficiente na destruição de bactérias e alguns vírus (Simonne, 2005). A sua composição pode conter etanol, 1-propanol ou 2-propanol, ou uma combinação destes. Os produtos mais eficazes contêm entre 60 e 95% de álcool, pois concentrações superiores são menos eficientes devido à necessidade da presença de água para a desnaturação de proteínas (Larson e Morton, 1991 *apud* Boyce e Pittet, 2002).

#### **1.2.1.3.2. Secagem das mãos**

Após retirada a sujidade visível das mãos estas devem ser sempre bem secas, sendo os métodos de secagem mais comuns as toalhas de papel e os secadores de ar quente. Nesta etapa há que assegurar que a secagem das mãos é eficiente, o que é muito importante para prevenir a translocação de microrganismos (Patrick *et al.*, 1997 *apud* Taylor *et al.* 2000), e que não ocorre contaminação das mãos, pois tanto os dispensadores das toalhas de papel como a saída dos secadores podem estar contaminados (Harrison *et al.*, 2003; Taylor *et al.*, 2000). Desta forma, há que ter bastante cuidado quando se seca as mãos para não se tocar nessas superfícies, nem com as mãos nem com as toalhas de papel, quando é este o método usado.

Vários estudos foram já realizados para verificar qual o melhor método de secagem das mãos. Alguns resultados indicam não haver uma diferença relevante entre o uso de ambos os métodos na redução do número de bactérias, outros indicam um dos métodos como sendo mais eficiente. Porém, há que ter sempre em conta que estes resultados dependem dos métodos de determinação da carga bacteriana e do grau de hidratação da pele (Taylor *et al.*, 2000).

### 1.2.1.3.3. Utilização de luvas e outras medidas de proteção

Para além de uma inadequada lavagem das mãos, uma das falhas mais frequente, associada a manipuladores de alimentos infetados ou portadores de microrganismos patogénicos, é o contato das mãos descobertas com os alimentos (Todd *et al.*, 2007). A organização americana responsável pelo controlo de alimentos e agentes químicos, denominada FDA (*Food and Drug Administration*), recomenda a utilização de luvas como barreira na prevenção do contacto das mãos com alimentos prontos a comer. Na realidade é mais na preparação de alimentos, comparando com outras atividades, que os manipuladores utilizam luvas (Green *et al.*, 2007). Porém, ao utilizarem luvas, os trabalhadores não devem descuidar a higiene das mãos, pois a sua utilização, por si só, não impede a transmissão de microrganismos para os alimentos. Desta forma, antes de se usar as luvas deve-se lavar corretamente as mãos, e depois as luvas devem ser desinfetadas, por exemplo com um desinfetante à base de álcool. Se uma tarefa for interrompida, ou se houver uma mudança de tarefa, as luvas devem ser rejeitadas, as mãos novamente lavadas, e usadas novas luvas desinfetadas (Batista e Saraiva, 2003).

Não está provado que a utilização de luvas seja a forma mais segura de manipular alimentos do que quando estas não são utilizadas mas as mãos são corretamente lavadas (Batista e Saraiva, 2003). Ayçiçek *et al.* (2004), no entanto, concluíram que uma utilização apropriada de luvas permite uma menor carga bacteriana nas mãos.

Para além de uma correta higiene pessoal, quer sejam utilizadas luvas ou não, outras medidas devem ser tidas em conta pelos manipuladores durante a confeção de alimentos. Os trabalhadores devem utilizar sempre roupas de proteção de acordo com os regulamentos de segurança alimentar. Estas roupas, ou fardas, permitem proteger os alimentos da contaminação pelas roupas dos manipuladores e ao mesmo tempo proteger as próprias roupas dos manipuladores da contaminação por restos de alimentos. Para além do mais, as fardas devem estar sempre limpas. É também importante a utilização de toucas para cobrir o cabelo, as quais protegem contra a queda de cabelos para os alimentos. Este aspeto é extremamente importante para evitar a contaminação alimentar, pois muitas vezes o cabelo contém bactérias do género *Staphylococcus* (Ancipa *et al.*, 2006).

Estas e outras medidas, como a utilização de calçado adequado, a não utilização de joalheria (Ancipa *et al.*, 2006), entre outras, devem ser sempre tidas em conta pelos trabalhadores para prevenir a contaminação de alimentos por práticas pessoais incorretas.

### **1.3. Microrganismos**

Durante a sua confeção, os alimentos podem ser expostos a situações de perigo de contaminação microbiana, a qual pode estar relacionada com práticas inadequadas durante o processamento e manipulação (Litz *et al.*, 2007). Os próprios manipuladores de alimentos são portadores de microrganismos e podem contaminar os alimentos com microrganismos patogénicos que poderão causar doenças a quem os consome (Batista e Saraiva, 2003). A transferência de microrganismos de matérias-primas, e do próprio ambiente, para os alimentos já confeccionados, são uma das causas mais frequentes de contaminação de alimentos, e as mãos dos manipuladores são o principal veículo de transmissão (Ancipa *et al.*, 2006). Esta transferência de microrganismos é feita por contaminação cruzada, a qual pode ser direta, através da manipulação de alimentos, o que ocorre quando há uma higiene pessoal descuidada, ou indireta, quando há uma má conduta e um deficiente controlo do equipamento por parte dos manipuladores (Taylor, *et al.*, 2000). Os microrganismos envolvidos são bolores, leveduras, bactérias, vírus ou parasitas, porém, as bactérias são os que mais contribuem para a contaminação de alimentos quando se verificam falhas na higiene pessoal (Batista e Saraiva, 2003; Greig *et al.*, 2007).

#### **1.3.1. Microbiota da pele**

A microbiota da pele está dividida em residente e transitória. A residente é aquela que se encontra em pessoas saudáveis, e que geralmente não traduz um risco para a saúde. Estes microrganismos encontram-se nas camadas mais profundas da pele e nos folículos de cabelo e glândulas, e por este motivo podem ser reduzidos mas não totalmente removidos pelas práticas de higiene (Taylor, *et al.*, 2000). As bactérias que fazem parte da microbiota residente consistem principalmente em bactérias Gram-

positivas, como algumas espécies de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* spp. e alguns anaeróbios tais como *Propionibacterium* spp. (Madigan, Martinko e Parker, 2000).

A microbiota transitória consiste em microrganismos que se aderem à superfície da pele através do contacto com o ambiente inanimado, e podem ser transferidos para os alimentos se não houver cuidados de higiene pessoal. Alguns podem ser potencialmente patogénicos, mas ao contrário dos microrganismos residentes, estes podem ser removidos através da lavagem das mãos (Taylor *et al.*, 2000). Desta forma, na indústria alimentar, a higiene das mãos tem como principais preocupações a remoção da microbiota transitória recentemente adquirida e a possibilidade da sua transferência (Hansen e Knøchel, 2003).

A microbiota autóctone da pele do Homem varia de acordo com a área geográfica, o nível socioeconómico, os hábitos alimentares e de higiene, e outros fatores que alteram a suscetibilidade do hospedeiro. Porém, há evidências de que apesar de haver uma grande variabilidade na microbiota da pele de pessoa para pessoa, estes microrganismos são relativamente constantes em cada indivíduo (Jumaa, 2005).

### **1.3.2. Microrganismos indicadores de higiene**

Os principais microrganismos indicadores associados a práticas de higiene são, entre outros, mesófilos aeróbios, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Department of Health, 2000 *apud* Lues e Tonder, 2007). Estes, entre outros microrganismos, têm sido associados a doenças alimentares, sendo causadores de doenças, e por vezes até morte, de várias pessoas por ano (Borch e Arinder, 2002 *apud* Lues e Tonder, 2007).

#### **1.3.2.1. Mesófilos aeróbios totais**

Organismos mesófilos aeróbios podem ser bactérias, fungos filamentosos ou leveduras, cuja temperatura ótima de crescimento é de cerca de 37°C e geralmente têm origem nos humanos ou animais. A maioria das bactérias patogénicas para o Homem pertence a este grupo, tais como como *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens* (Adams e Moss, 2008). Por englobarem uma vasta gama de

microrganismos, os mesófilos aeróbios tornam-se excelentes indicadores do estado higiénico das mãos e da potencialidade de contaminação dos alimentos.

### **1.3.2.2. Coliformes totais**

O grupo dos coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, as quais têm a capacidade de fermentar lactose e produzir gás quando incubadas a temperaturas entre 35 e 37°C (Cunha, 2006). Deste grupo de bactérias fazem parte os géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, mas apenas *E. coli* tem como habitat natural o intestino humano e animal. Os restantes géneros, para além de poderem ser encontrados nas fezes, estão também presentes noutros ambientes, como no solo e na vegetação (Cunha, 2006). Apesar deste grupo de microrganismos incluir os coliformes fecais, a sua presença nas mãos de manipuladores não indica necessariamente que haja contaminação fecal ou bactérias patogénicas de origem intestinal (Franco, 2003 *apud* Cunha, 2006). Este grupo é, no entanto, um indicador de falta de higiene.

### **1.3.2.3. *Escherichia coli***

*E. coli* é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbica facultativa. Várias estirpes desta bactéria têm surgido como importantes causadores de infeções de origem alimentar. Estas são capazes de produzir enterotoxinas, sendo, por isso, designadas de enterotóxicas. Uma estirpe em particular, *E. coli* O157:H7, causa milhares de infeções e mata centenas de pessoas por ano, e a doença provocada pela enterotoxina desta estirpe pode provocar diarreia hemorrágica e falha renal em crianças (Madigan, Martinko e Parker, 2000).

A importância do seu isolamento em amostras de mãos está no facto desta bactéria, para além de uma importante causa de contaminação alimentar, ser um importante indicador de contaminação fecal (Ayçiçek *et al.*, 2004), uma vez que tem como habitat exclusivo o trato intestinal humano e de animais homeotérmicos (Siqueira, 1995 *apud* Machado *et al.*, 2009; Cunha, 2006). Porém, esta bactéria não é, geralmente, detetada nas mãos (De Wit e Rombouts, 1992 *apud* Lues e Tonder, 2007).

#### 1.3.2.4. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva, coagulase-positiva, que produz várias enterotoxinas, as quais são libertadas para o meio ou alimentos envolventes. Vários tipos de enterotoxinas de *S. aureus* já foram identificadas, sendo a enterotoxina A a que mais frequentemente está associada a surtos de intoxicação alimentar por estafilococos (Madigan, Martinko e Parker, 2000).

O ser humano tende a ter grandes quantidades de *Staphylococcus aureus* no nariz e na boca, principalmente em caso de constipações ou feridas (Ancipa *et al.*, 2006). Apesar de estar presente normalmente no corpo humano sem causar qualquer tipo de patologia esta bactéria pode ser transferida pelas mãos dos manipuladores para os alimentos e produzir enterotoxinas, provocando intoxicações alimentares no consumidor (Batista e Saraiva, 2003). Segundo Kampf e Kramer (2004), *S. aureus* tem a capacidade de sobreviver nas mãos por, pelo menos, 150 minutos e em superfícies inanimadas por 7 meses. Tanto nas mãos como em superfícies inanimadas, estes períodos de tempo são o suficiente para que ocorra contaminação cruzada dos alimentos. Por estes motivos, *S. aureus* é uma bactéria frequentemente isolada em estudos sobre contaminação de alimentos pelas mãos de manipuladores (Almeida *et al.*, 1995; Litz *et al.*, 2007; Andrade, Silva e Brabes, 2003; Ayçiçek *et al.*, 2004; Millezi *et al.*, 2007; Machado *et al.*, 2009).

Num estudo de revisão realizado por membros do *Committee on the Control of Foodborne Illness of the International Association of Food Protection* (Todd *et al.*, 2007, V. LXX, Part 2), em que se observou o papel dos manipuladores de alimentos na ocorrência de surtos alimentares, constatou-se que o maior surto ocorreu no Brasil devido a uma intoxicação por *S. aureus*. Menos de quatro horas após uma cerimónia seguida de uma receção com refeição, quatro mil pessoas desenvolveram sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, dores abdominais, prostração e tonturas, das quais 81 foram admitidos nos cuidados intensivos de hospitais locais e dezasseis acabaram por falecer. Estudos microbiológicos, utilizando o método de esfregaço com zaragatoa, às mãos dos manipuladores responsáveis pela confeção dos alimentos servidos durante a receção, indicaram a presença de *S. aureus* nas suas unhas e nasofaringe. A bactéria foi também encontrada em restos dos alimentos com uma concentração de  $2,0 \times 10^8$  UFC/g, tendo produzido 6µg de enterotoxina A, o que corresponde a um nível extremamente



elevado. Estes resultados indicam que houve contaminação cruzada da nasofaringe para as mãos e, por sua vez, das mãos para os alimentos confeccionados.

## **1.4. Perigos e doenças alimentares**

### **1.4.1. Conceito de perigo**

A *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) definiu o conceito de perigo alimentar como qualquer contaminação ou crescimento inaceitável, ou sobrevivência de bactérias em alimentos que possa afetar a sua inocuidade ou qualidade, ou a produção ou persistência de substâncias como toxinas, enzimas ou produtos resultantes do metabolismo microbiano em alimentos. Desta forma, os perigos são de tal natureza que a sua eliminação ou redução a níveis aceitáveis são essenciais para que se produzam alimentos inócuos (Batista e Venâncio, 2003).

#### **1.4.1.1. Classificação de perigos**

Os perigos alimentares podem, de acordo com a sua natureza, ser classificados em três categorias: biológicos, químicos ou físicos. Os perigos de natureza biológica são os mais relevantes no âmbito das doenças alimentares, representando maior risco à inocuidade dos alimentos (Cunha, 2006; Batista e Venâncio, 2003). Nesta categoria estão incluídas bactérias, fungos, vírus, parasitas patogênicos e toxinas microbianas. Estes microrganismos estão muitas vezes associados à manipulação dos alimentos pelos operadores, assim como a produtos crus contaminados que são utilizados como matéria-prima. Muitos deles ocorrem de forma natural no ambiente onde são produzidos os alimentos (Batista e Venâncio, 2003).

De entre estes vários microrganismos, os maiores responsáveis por elevados números de casos de doenças de origem alimentar são as bactérias patogênicas (Batista e Venâncio, 2003), as quais podem ser tóxicas ou infecciosas (Cunha, 2006). A ingestão de alimentos contaminados por microrganismos pode causar infecções, quando os alimentos contêm um número suficiente de microrganismos patogênicos viáveis, ou intoxicações, quando os alimentos estão contaminados com toxinas microbianas

(Madigan, Martinko e Parker, 2000), mesmo que os microrganismos que as produziram tenham sido eliminados (Batista e Venâncio, 2003).

#### **1.4.1.2. Fatores de perigo biológico**

Vários são os fatores que podem contribuir para a ocorrência de um perigo biológico, tais como (Batista e Venâncio, 2003):

→ Variáveis do microrganismo:

Este fator prende-se com a variabilidade de expressão dos vários mecanismos patogênicos; o potencial do microrganismo para causar doenças; a sua sensibilidade às características do substrato alimentar e às condições ambientais envolventes (e.g. pH, temperatura, atividade da água); a natureza das interações com outros organismos.

→ Nível de dose infetante:

Este fator consiste no número mínimo de microrganismos necessários para causar uma doença, a qual pode variar de indivíduo para indivíduo. O nível da dose infetante mínima pode ser influenciado por fatores de natureza fisiológica por parte do consumidor e por fatores intrínsecos e extrínsecos aos alimentos.

→ Variáveis do hospedeiro:

Este fator inclui a idade do hospedeiro; a sua condição física e estado geral de saúde; a existência de doenças que afetem o sistema digestivo; o estado nutricional; a existência de distúrbios genéticos; a quantidade de alimentos consumidos; a utilização de medicamentos; o nível de funcionamento do sistema digestivo; a variação da acidez gástrica.

#### **1.4.1.3. Severidade dos perigos biológicos**

Os microrganismos não têm todos o mesmo potencial para causar doenças, podendo o seu tipo de perigo ser classificado de nenhum a muito grave (Tabela 1),

consoante a severidade do microrganismo para a saúde do consumidor (Batista e Venâncio, 2003):

→ Alta:

Tem efeitos graves para a saúde, necessita de internamento, e pode mesmo levar à morte do indivíduo.

→ Média:

Têm uma menor patogenicidade/gravidade, para o mesmo grau de contaminação. Pode ser necessária hospitalização mas os efeitos são revertidos por assistência médica

→ Baixa:

Os microrganismos incluídos neste grupo são as causas mais comuns de surtos de doenças alimentares, os quais ocorrem devido aos alimentos conterem uma maior quantidade de microrganismos patogénicos mas com menor patogenicidade. Geralmente os sintomas associados são indisposição, mal-estar, podendo ser necessário assistência médica.

**Tabela 1** - Classificação de perigos biológicos com base na sua severidade para a saúde do consumidor (adaptado de Batista e Venâncio, 2003).

Classificação	Exemplos
Alta	Toxina de <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>S. paratyphi</i> A e B, <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Clostridium perfringens</i> tipo C, <i>Listeria monocytogenes</i> (em alguns pacientes), <i>Escherichia coli</i> O157:H7.
Média	<i>Escherichia coli</i> enteropatogénicas, <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Streptococcus</i> $\beta$ -hemolítico, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Streptococcus monocytogenes</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Baixa	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> tipo A, <i>Campylobacter jejuni</i> , toxina de <i>Staphylococcus aureus</i> .

#### 1.4.2. Doenças transmitidas por alimentos

Segundo a CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*), uma doença transmitida por alimentos consiste num incidente em que duas ou mais pessoas apresentam os mesmos sintomas de doença após a ingestão de um mesmo alimento que, através de análises epidemiológicas e microbiológicas, é apontado como sendo a origem da doença (Batista e Venâncio, 2003; Greig *et al.*, 2007).

Estas doenças podem ser infeções, intoxicações ou infeções mediadas por toxina. Para que uma doença transmitida por alimentos ocorra é necessário que o organismo patogénico ou a sua toxina estejam presentes no alimento, mas também é necessário que o microrganismo se encontre em quantidade suficiente para causar infeção ou produzir toxinas, que o alimento seja capaz de sustentar o crescimento do agente patogénico e que permaneça na zona de perigo de temperatura tempo suficiente para que o microrganismo se multiplique ou produza a sua toxina, e ainda que seja ingerida uma quantidade suficiente de alimento que ultrapasse a dose infetante para o indivíduo (Batista e Venâncio, 2003).

*Salmonella* e *Clostridium perfringens*, juntamente com *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Shigella*, são bactérias que se podem encontrar no trato intestinal, podendo passar para as mãos quando se vai à casa de banho, através do papel higiénico, do manípulo do autoclismo, das torneiras e da maçaneta das portas. Quando transmitidas para os alimentos devido a uma incorreta higiene das mãos, estas bactérias podem provocar infeções (Ancipa *et al.*, 2006). A salmonelose é a principal causa de infeções transmitidas por alimentos em muitos países (WHO, 2002).

A intoxicação alimentar mais comum é causada por *S. aureus*, devido à produção de várias enterotoxinas que são libertadas para o alimento. Se os alimentos contaminados forem ingeridos, o consumidor poderá desenvolver reações tais como náuseas com vômitos e diarreia. Estas toxinas são relativamente termoestáveis, e por este motivo, mesmo que os alimentos sejam novamente cozinhados antes da sua ingestão, a toxina continuará ativa (Madigan, Martinko e Parker, 2000). *Clostridium botulinum* é outro exemplo de bactéria causadora de intoxicações alimentares devido à produção de uma toxina.

Quando há ocorrência de infecções mediadas por toxinas, significa que a toxina só é produzida após a ingestão do alimento, quando este contém uma determinada quantidade de microrganismos patogênicos. *Clostridium perfringens* é um exemplo de bactéria capaz de produzir toxinas após a ingestão do alimento onde se encontra (Batista e Venâncio, 2003).

As doenças provocadas pelo consumo de alimentos contaminados, para além de terem sintomas comuns como má disposição, febre, vômitos e diarreias, em casos extremos podem mesmo ser fatais (Batista e Saraiva, 2003).

Cada vez mais, há uma maior sensibilização para o facto de certos microrganismos patogênicos conseguirem persistir em ambientes de processamento de alimentos e contaminá-los, levando à transmissão de doenças. A capacidade que os organismos têm para crescer nos alimentos depende do seu habitat, assim como do ambiente em que os alimentos são conservados. Nutrientes, pH, atividade da água, temperatura, concentração de sal e potencial de oxidação-redução, são fatores que influenciam o crescimento microbiano e que podem ser usados para o inibir ou para inviabilizar as células (Ancipa *et al.*, 2006; Batista e Venâncio, 2003). Para além da sua elevada capacidade de multiplicação em ambientes propícios, muitos dos microrganismos patogênicos que causam doenças alimentares conseguem sobreviver tempo suficiente nas mãos e superfícies para serem posteriormente transferidos para alimentos ou para as mãos de outros trabalhadores (Todd *et al.*, 2009, V. LXXII, Part 6). Teoricamente uma ou poucas células de um microrganismo patogénico poderão causar doença, pois um baixo nível de contaminação dos alimentos pode resultar na ingestão de um grande número de microrganismos, bastando para isso que haja condições favoráveis ao seu crescimento (Todd *et al.*, 2008, V. LXXI, Part 4).

Na tabela 2 descrevem-se algumas das principais condições para que ocorram alguns dos principais perigos biológicos.

**Tabela 2** – Condições para a ocorrência de alguns perigos biológicos (adaptado de Batista e Venâncio, 2003).

Perigos biológicos	Parâmetros					
	T <sub>Min</sub> (°C)	T <sub>Máx</sub> (°C)	pH <sub>Min</sub>	pH <sub>Máx</sub>	A <sub>w</sub> Min	NaCl <sub>Máx</sub> (%)
<i>Bacillus cereus</i>	5	55	4,90	8,80	0,93	10,0
<i>Campylobacter jejuni</i>	32	45	4,90	9,00	0,98	2,0
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo A e B proteolítico)	10	50	4,60	8,50	0,93	10,0
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E não proteolítico)	3	45	4,60	8,50	0,97	5,0
<i>Clostridium perfringens</i>	12	50	5,50	9,00	0,94	7,0
<i>Escherichia coli</i>	7	46	4,40	9,00	0,95	6,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	45	4,39	9,40	0,92	10,0
<i>Salmonella spp.</i>	5	47	4,20	9,50	0,94	8,0
<i>Shigella spp.</i>	7	47	4,90	9,30	0,97	5,2
<i>Staphylococcus aureus</i> (células)	7	48	4,00	10,00	0,83	20,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (toxina)	10	46	4,50	9,60	0,88	10,0

#### 1.4.2.1. Agentes patogênicos na origem de surtos alimentares

Para além das bactérias, alguns parasitas e vários vírus estiveram na origem de importantes surtos alimentares. Por exemplo, num estudo sobre a implicação de manipuladores de alimentos na ocorrência de vários surtos alimentares entre 1927 e 2007 (Greig *et al.*, 2007), observou-se que, em 816 surtos ocorridos, 60,2% tinham sido causados por vírus, principalmente norovírus e vírus da hepatite A, 34,3% tinham sido de origem bacteriana, principalmente devido a *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* e *Streptococcus*, e apenas 2,8% dos surtos tiveram como causa parasitas, principalmente *Cyclospora cayetanensis*. Norovírus originou um maior número de pessoas infetadas, tendo sido responsável por 27081 casos, sendo seguido por *Shigella spp.* com 15276 casos, *Salmonella* (não typhi) com 9136, e *S. aureus*, responsável pela ocorrência de 6423 casos. Porém, apesar dos vírus terem sido responsáveis por um maior número de surtos, apenas 3 géneros diferentes foram identificados como agentes etiológicos, enquanto no domínio das bactérias se identificaram 8 géneros diferentes. Na maioria dos surtos observados o fator de contaminação foi a manipulação de alimentos por pessoas infetadas ou portadoras de um microrganismo patogénico.

### **1.4.3. Medidas de controlo dos perigos**

Medidas de controlo são medidas que devem ser estabelecidas e implementadas pelas empresas em que há produção ou manipulação de alimentos, para garantir a segurança alimentar dos produtos (Batista e Venâncio, 2003). Acima de tudo, a segurança dos alimentos é garantida através de uma abordagem preventiva, recorrendo à implementação de códigos de boas práticas de higiene e de fabrico em toda a cadeia alimentar, assim como à aplicação de procedimentos tendo como base os princípios do sistema HACCP (Gomes, 2007).

O sistema HACCP (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo) foi desenvolvido pela NASA, juntamente com a empresa Pilsbury Co, para assegurar a saúde dos astronautas, prevenindo doenças de origem alimentar (Richmond, 2009). Este sistema controla a qualidade dos alimentos desde a preparação, em que são planeadas formas de controlo em pontos específicos de forma a se prevenir perigos e garantir a segurança alimentar (Ancipa *et al.*, 2006). Para que se estabeleça um sistema adequado de HACCP devem ser implementadas várias medidas de controlo, tais como a formação do pessoal; a construção e manutenção de infraestruturas; a construção e manutenção de equipamentos; a higiene pessoal, através de um código de boas práticas; a higienização das instalações, equipamentos e utensílios; e o controlo de pragas (Batista e Venâncio, 2003).

No caso particular do controlo de perigos biológicos, em empresas em que se encontram implementados sistemas de HACCP, geralmente existem três objetivos que consistem em (Batista e Venâncio, 2003):

- 1) Eliminar ou reduzir significativamente o perigo;
- 2) Evitar ou minimizar o crescimento dos microrganismos e a sua produção de toxinas;
- 3) Controlar a contaminação

Para a implementação destas medidas deve-se ter sempre em consideração os fatores de crescimento que estão relacionados com as características intrínsecas dos alimentos, mas também do ambiente em que estes se encontram. Para este fim, existem vários processos que permitem eliminar ou controlar os microrganismos, tais como, processos térmicos, secagem, acidificação, salga, adição de aditivos, fermentação, embalagem, entre outros (Batista e Venâncio, 2003).

#### 1.4.4. Critérios microbiológicos

A legislação alimentar tem como principal objetivo assegurar um elevado nível de proteção da saúde pública. Uma vez que, a nível microbiológico, os alimentos podem apresentar perigos que constituem uma fonte de doenças de origem alimentar para o ser humano, e que, por esse motivo, os alimentos não devem conter microrganismos, ou as suas toxinas ou metabolitos, em níveis que representem um risco para a saúde humana, o regulamento (CE) N.º 2073/2005 definiu critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Este regulamento estipula critérios para certos microrganismos, assim como as regras de execução para o seu cumprimento pelos operadores da cadeia alimentar (Gomes, 2007).

Os critérios microbiológicos fornecem orientações em relação à aceitabilidade dos géneros alimentícios e dos seus processos de fabrico, manuseamento e distribuição, e a sua utilização deve fazer parte da aplicação de procedimentos baseados nos sistemas HACCP, assim como de outras medidas de controlo da higiene. Estes critérios de segurança dos alimentos fixam um limite acima do qual se deve considerar que um género alimentício está inaceitavelmente contaminado com determinados microrganismos (regulamento (CE) N.º 2073/2005).

O estabelecimento destes critérios microbiológicos é uma medida de gestão dos riscos, que permitirá um aumento da proteção dos consumidores e da competitividade entre operadores das empresas do setor alimentar, através da definição de regras justas e precisas na UE (Gomes, 2007).

Quando se estabelecem limites microbiológicos deve-se considerar os riscos relacionados com os microrganismos e as condições previstas para manipulação e consumo dos alimentos, assim como a probabilidade dos microrganismos se distribuírem de forma desigual no alimento e a variabilidade inerente ao procedimento de análise (*Codex Alimentarius*, 2003). Porém, os critérios estipulados pelo regulamento (CE) N.º 2073/2005 referem-se apenas a microrganismos nos alimentos, não sendo estabelecidos quaisquer limites para superfícies de contacto com alimentos ou para as mãos de manipuladores.

Devido à inexistência de critérios microbiológicos para as mãos de manipuladores, e uma vez que, no caso de restaurantes e estabelecimentos semelhantes



há contacto direto das mãos com os alimentos durante a confeção de refeições, os limites microbiológicos devem ser fixados com base em guias e padrões de legislação, literatura, experiência prática, levantamento prévio de dados e normas internas de cada empresa (Valsechi, 2006). Assim, cada empresa deverá definir quais os critérios que melhor se adequam ao seu sistema de funcionamento.

### **III. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **1. Material**

- Zaragatoas estéreis e tubos com 10 mL de tampão neutralizante, TS/5-42 Technical Service Consultants Lda;
- Tubos de ensaio contendo 10 mL de diluente de recuperação máxima (DRM) estéril;
- Suporte de tubos de ensaio;
- Placas de Petri descartáveis, 90 mm, Normax;
- Micropipeta de 1000 µL, Eppendorf Research;
- Pontas descartáveis estéreis – 100 Biosphere Filter Tips, No/Ref. 70.762.211, 1000 µL blue, Sarstedt.

#### **2. Equipamento**

- Bico de Bunsen + pedal WLD-TEC/Gasprofil 1<sup>SCS</sup>;
- Contador de colónias + caneta de ponta metálica, IUL instruments, modelo 601;
- Estufa de incubação Memmert, BM-200, regulada à temperatura de 30±1°C;
- Estufa de incubação/refrigeração Sanyo, MIR 153, regulada à temperatura de 37±1°C.

#### **3. Meios de cultura e reagentes**

- Maximum Recovery Diluent (DRM), CMO733, Oxoid;
- Plate Count Agar (PCA), CM0325, Oxoid;
- RAPID'E.coli 2 Medium, Bio-Rad;
- Baird Parker + RPF Agar, Bio-Rad.

#### 4. Amostragem

Recolheram-se amostras da mão ativa de 30 participantes: 27 cozinheiros e 3 copeiros. As amostras foram recolhidas durante o horário de trabalho em cozinhas de um estabelecimento hoteleiro. Os cozinheiros manipulavam alimentos crus e confeccionados, e os copeiros manipulavam loiça suja e lavada.

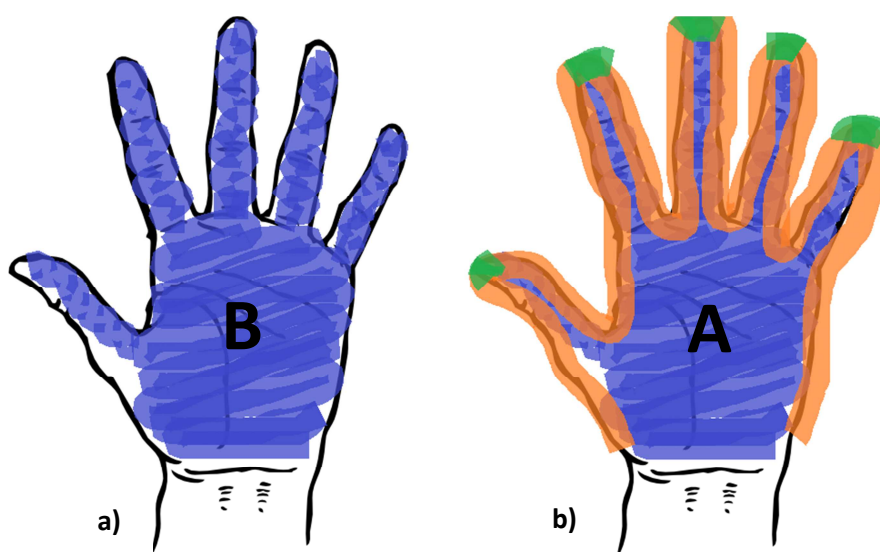
Foram efetuados quatro tipos de colheita de amostras, em que se variou a área da mão amostrada e os agentes de higienização utilizados:

A1 – amostragem da palma da mão, contorno dos dedos e sob a unhas (Ilustração 1.b), antes e após a higienização das mãos com o sabonete antimicrobiano seguida da utilização de um antisséptico à base de álcool.

B1 – amostragem apenas da palma da mão (Ilustração 1.a), antes e após a higienização das mãos com o sabonete antimicrobiano seguida da utilização de um antisséptico à base de álcool.

A2 – amostragem da palma da mão, contorno dos dedos e sob as unhas (Ilustração 1.b), antes e após a higienização das mãos apenas com o sabonete antimicrobiano.

B2 – amostragem apenas da palma da mão (Ilustração 1.a), antes e após a higienização apenas com o sabonete antimicrobiano.



**Ilustração 1.** a) Área da mão amostrada em recolhas de tipo B1 e B2. b) Área da mão amostrada em recolhas de tipo A1 e A2.

Para alcançar os objetivos propostos para o presente trabalho foram selecionados 30 manipuladores, aos quais se recolheram amostras antes e após os dois tipos de higienização e em duas áreas da mão. Assim, no presente trabalho foram estudadas um total de 240 amostras, nas quais foram pesquisados microrganismos mesófilos aeróbios, coliformes e *S. aureus*. As inoculações para enumeração dos microrganismos a pesquisar, foram efetuadas em triplicado e em diferentes diluições de forma a respeitar o intervalo de contagem entre 30 a 300 UFC/placa (Madigan, Martinko e Parker, 2000).

Foi elaborada uma ficha (anexo I) para o registo do estado das mãos dos participantes antes de cada uma das amostragens. O objetivo deste registo foi avaliar a existência de uma variação da população microbiana quando ocorrem alterações no estado da pele das mãos, como cortes, pele seca, ou outras alterações no aspeto normal da pele.

#### **4.1. Condições disponíveis para a higienização das mãos dos colaboradores**

O estabelecimento hoteleiro em que foi feito o estudo dispunha, para a lavagem das mãos dos cozinheiros e copeiros, de lavatórios só para esse fim com água corrente a uma temperatura de cerca de 35°C, um sabonete antimicrobiano, toalhas de papel para a secagem das mãos, e um antisséptico à base de álcool. Para a higiene das mãos dos participantes neste estudo foram utilizados apenas os meios disponíveis no estabelecimento, e nenhuma recomendação foi dada acerca do processo de lavagem das mãos. Desta forma, cada participante fez a lavagem das suas mãos como é costume no seu dia a dia de trabalho, para que os resultados obtidos fossem o mais próximo da rotina. Segundo Bloomfield *et al.* (2007), geralmente é indicado um tempo de 15 segundos de lavagem com o sabonete, porém, a aplicação dessa recomendação iria afastar este estudo da realidade, pois normalmente os manipuladores dedicam menos tempo à lavagem das suas mãos.

Para a lavagem das mãos, os participantes tinham à sua disposição um sabonete líquido antimicrobiano, Epicare 5 da Ecolab, cujo agente ativo é o triclosano (0,5% – 1%). Este agente antisséptico atua entrando nas células bacterianas e afetando a

membrana citoplasmática e a síntese de RNA, ácidos gordos, e proteínas (Boyce e Pittet, 2001).

Após lavagem das mãos é muito importante uma secagem total das mesmas, e segundo Snyder (1998), a utilização de toalhas de papel descartáveis é o melhor método de secagem das mãos na indústria alimentar. No estabelecimento hoteleiro em causa, as toalhas de papel estavam disponíveis num rolo colocado num suporte preso à parede.

O produto disponível para utilização após a lavagem e secagem das mãos é um gel desinfetante, sem passagem por água, Spitacid da Shield Medicare, que contém uma mistura de 70% de álcool (propano-2-ol) com emolientes. Este desinfetante tem uma atividade antimicrobiana de largo espectro e uma eficácia comprovada contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Jumaa, 2005).

## 5. Método de recolha

Para avaliar a higiene das mãos podem ser usados métodos de análise diretos, como esfregaço, contacto direto por impressão em placa com meio de cultura adequado, ou arrastamento dos microrganismos através de lavagem com solução isotónica contida em luva ou saco estéril ou por mergulho dos dedos na solução. Estes métodos têm um carácter quantitativo/qualitativo na deteção de microrganismos viáveis e cultiváveis que podem ser patogénicos ou indicadores.

O esfregaço pode ser realizado utilizando zaragatoas, esponjas ou tecidos, e encontra-se descrito na norma internacional ISO 18593:2004(E)<sup>2</sup>. É uma das técnicas mais usadas pelos investigadores no campo da microbiologia alimentar para avaliar a eficácia de procedimentos de limpeza e desinfeção. O método de contacto direto, também muito utilizado (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008), permite a recuperação direta em meios de cultura ou membranas, e encontra-se na mesma norma. O método de lavagem em saco/luva, de grande sucesso neste tipo de estudos, foi recomendado pela “Food and Drug Administration” (1978) (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008). O método de mergulho dos dedos, descrito na norma EN 1499:1997, consiste em exercer ligeira pressão com a ponta dos dedos numa placa de Petri contendo meio de cultura (Saraiwa, 2008).

---

<sup>2</sup> ISO 18593:2004(E) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surface using contact plates and swabs

Para uma utilização em rotina, alguns destes métodos não são muito adequados. A lavagem em saco/luva com uma solução isotónica é um método demorado (Hansen e Knøchel, 2003), pois é necessário manter a mão na solução durante 1 minuto (Saraiva, 2008; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2008), e o esfregaço com tecido e a impressão da palma da mão na placa de contacto são métodos limitados à recolha de amostras apenas da palma da mão. Desta forma, para este estudo, o método que se mostrou mais adequado foi o esfregaço com zaragatoa, pois permite recolher amostras de várias áreas da superfície da mão e de uma forma rápida e eficaz. Este método foi aplicado de acordo com a norma internacional ISO 18593:2004(E), cujo procedimento consiste em:

- remover a zaragatoa do invólucro estéril e molhar a ponta num tubo contendo uma solução isotónica estéril;
- de seguida pressionar a ponta da zaragatoa contra a parede do tubo para remover o excesso de solução isotónica;
- finalmente, passar a zaragatoa nas superfícies da mão a investigar enquanto se faz movimentos rotativos com a mesma.

Após recolhidas as amostras, cada zaragatoa foi colocada no respetivo tubo contendo 10 mL de solução tampão. Os tubos foram posteriormente transportados para o laboratório dentro de uma caixa térmica com termoacumuladores.

## **6. Processamento das amostras**

Para cada amostra recolhida, através da técnica anteriormente mencionada, os microrganismos foram isolados e/ou enumerados num meio de cultura apropriado ao seu crescimento.

As metodologias de pesquisa de microrganismos envolvidos na contaminação de alimentos variam de acordo com a técnica de amostragem utilizada. Quando se usa a técnica de impressão em placa, após incubação as colónias são contadas diretamente na placa de recolha. Se a técnica de amostragem utilizada for o esfregaço ou a lavagem, pode-se utilizar o método de contagem em placas, em que são feitas diluições em série das amostras. As diluições são inoculadas por incorporação ou espalhamento num meio de cultura apropriado, e incubadas para posterior contagem. Pode-se utilizar também o

método dos tubos múltiplos, no qual, após homogeneização, são feitas diluições seriadas das amostras, das quais se transferem alíquotas iguais para tubos contendo o meio de cultura apropriado e um tubo coletor de gás. Após incubação, através do número de tubos positivos por diluição determina-se o número mais provável por grama de produto, tendo como base a tabela estatística de Hoskins (Cunha, 2006).

Neste estudo, para avaliar a carga microbiana de cada amostra, utilizou-se o método de contagem em placas inoculadas por incorporação, o qual foi aplicado de acordo com a norma internacional ISO 7218:2007(E)<sup>3</sup>. Este método permite fazer uma análise direta através da enumeração de colónias de células viáveis e cultiváveis que vão crescer dentro do meio de cultura e também à superfície deste (Munsch-Alatossava *et al.*, 2007). Utilizou-se este método para a contagem de UFC/mão por ser o mais satisfatório para amostras com concentrações de microrganismos menores que 500 UFC devido ao elevado volume de inóculo (1mL) (Thatcher e Clark, 1968 apud Munsch-Alatossava *et al.*, 2007).

## 7. Microrganismos e meios de cultura

No presente estudo foram isolados, para contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) por mão, *S. aureus*, *Escherichia coli* e coliformes totais, e microrganismos mesófilos aeróbios totais.

Para pesquisa dos microrganismos neste estudo foram aplicadas as normas internas do laboratório onde foi realizada a parte prática do trabalho.

O facto de *S. aureus* ser a única bactéria patogénica que faz parte da microbiota residente, estando presente na pele de portadores sãos (Ayçiçek *et al.*, 2004, Snyder, 1998), e o facto de ser um dos principais responsáveis por surtos de intoxicações alimentares (Madigan, Martinko e Parker, 2000), torna importante a pesquisa da sua presença nas mãos de manipuladores. A pesquisa de *E. coli* é muito importante, pois é um excelente indicador de contaminação fecal, e os coliformes totais são bons indicadores de higiene. A pesquisa, no presente estudo, de microrganismos mesófilos aeróbios totais prende-se com o facto de a enumeração deste grupo de microrganismos

---

<sup>3</sup> ISO 7218:2007(E) Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations

nos permitir estimar a carga microbiana total das mãos sem especificar o tipo de microrganismos.

Apesar de ser a principal causa de doenças transmitidas por alimentos em muitos países (WHO, 2002), não se pesquisou a presença de *Salmonella* neste estudo devido ao facto de esta bactéria não ter sido isolada em nenhum dos estudos encontrados no âmbito da manipulação alimentar (Millezi *et al.*, 2007; Machado *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 1995).

### **7.1. *Staphylococcus aureus***

Para o isolamento de *S. aureus* foi utilizado o meio seletivo Baird-Parker, suplementado com RPF (Rabbit Plasma Fibrinogen). Este suplemento permite fazer simultaneamente a enumeração de colónias e a confirmação da presença de estafilococos coagulase-positivos devido à formação de um halo opaco à volta das colónias, o qual indica a produção de coagulase estafilocócica<sup>4</sup>. As placas foram incubadas a 37±1 °C durante 48 horas.

### **7.2. *E. coli* e coliformes totais**

Para o isolamento de colónias de *E. coli* e coliformes totais foi utilizado o meio Rapid *E. coli* 2 Agar, cujo princípio de ação se baseia na deteção simultânea de duas atividades enzimáticas, β-D-Glucuronidase (β-GLUC) e β-D-Galactosidase (β-GAL). Este meio contém dois substratos cromogéneos, um específico para a β-GAL, resultando na coloração azul a verde de colónias de coliformes totais (GAL+/GLUC-), e outro específico para β-GLUC, resultando na coloração violeta a rosa de colónias de *E. coli* (GAL+/GLUC+)<sup>5</sup>. As placas foram incubadas a 37±1 °C durante 24h.

### **7.3. Mesófilos aeróbios totais**

---

<sup>4</sup> Fonte: AES Chemunex, acessado a 25 de julho, 2011, disponível em [http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/Baird\\_Parker\\_RPF\\_agar\\_520330H.pdf](http://www.mibius.de/out/oxbaseshop/html/0/images/wysiwigpro/Baird_Parker_RPF_agar_520330H.pdf)

<sup>5</sup> Fonte: Bio-Rad, acessado a 25 de julho de 2011, disponível em <http://www3.bio-rad.com>



Para a enumeração de mesófilos aeróbios totais as amostras foram inoculadas no meio Plate Count Agar (PCA), o qual é usado para a enumeração da microbiota aeróbia total de produtos alimentares. As placas foram posteriormente incubadas a uma temperatura de  $30\pm 1^\circ\text{C}$  durante 48h.

## **8. Tratamento dos dados**

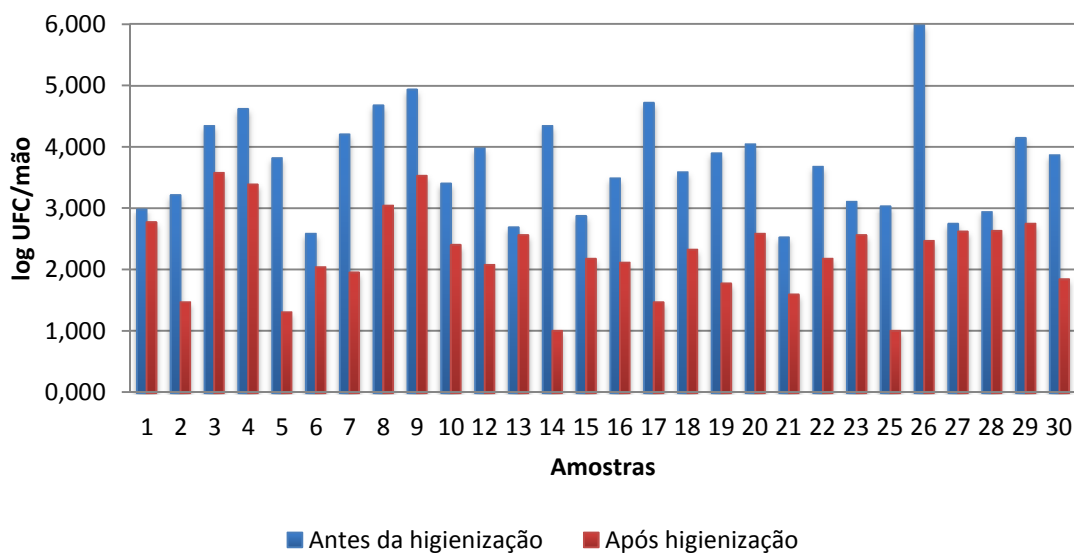
Os resultados obtidos para os diferentes parâmetros estudados - antes e após a lavagem; amostragem da palma da mão, contorno dos dedos e sob as unhas vs. amostragem apenas da palma da mão; variação da utilização dos produtos de higienização, e para os grupos microbianos pesquisados (mesófilos aeróbios, *S. aureus*, e *E. coli* e coliformes totais), foram tratados estatisticamente através do programa Microsoft Office Excel 2010. Utilizando o programa SPSS 16.0 foi ainda feito um teste Análise de Variância (ANOVA) a dois fatores para cada tipo de microrganismo pesquisado, utilizando as percentagens de redução em cada tipo de recolha.

Em termos de representação gráfica não se apresentam os resultados onde se observou um aumento de contagens após higienização.

#### IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

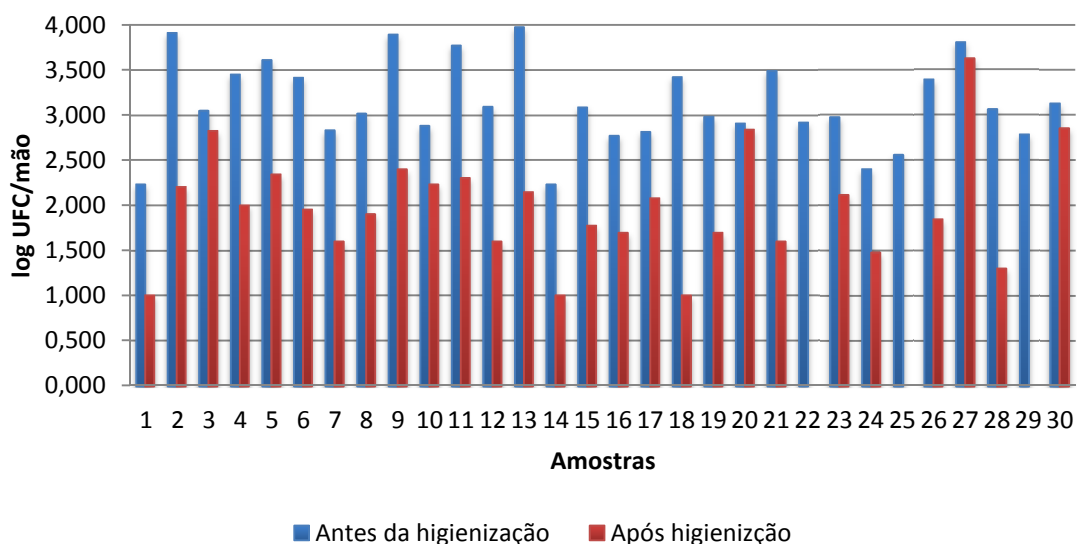
##### 1. Microrganismos mesófilos aeróbios

A figura 1 ilustra os resultados obtidos para as amostras recolhidas de três zonas da mão – palma, contorno dos dedos e sob as unhas – antes e após uma higienização completa – sabonete antimicrobiano e desinfetante à base de álcool – (A1). Podemos observar que antes da higienização, os valores variaram entre 2,52 e 5,98 log UFC/mão, e após a higienização observou-se uma redução, variando entre 1,00 e 3,58 log UFC/mão.



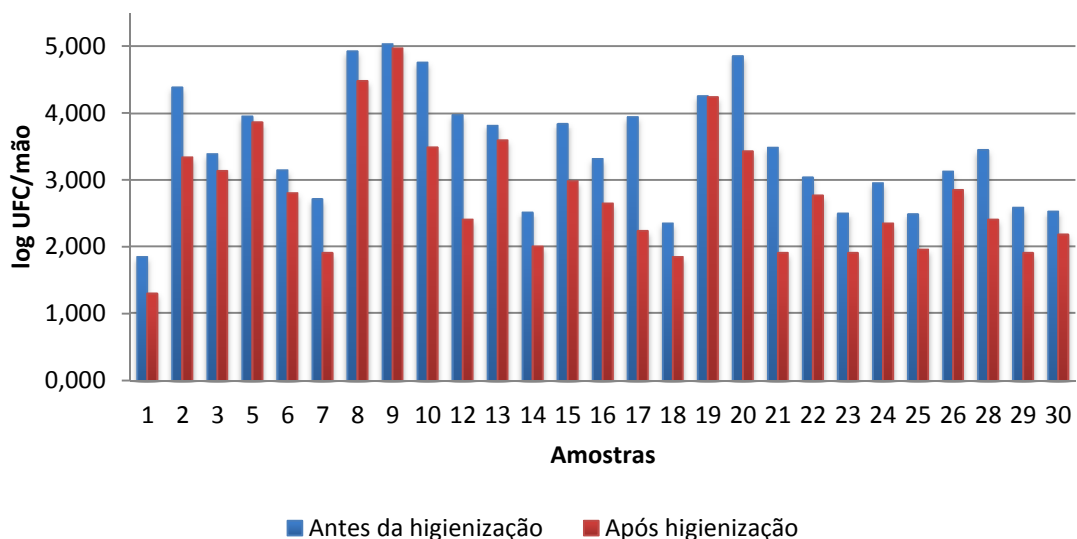
**Figura 1** – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras de três zonas da mão com higienização completa (A1).

Na figura 2 estão ilustrados os resultados obtidos para as amostras recolhidas apenas da palma da mão, antes e após uma higienização completa (B1). Antes da higienização, os valores variaram entre 2,23 e 3,97 log UFC/mão, e após a higienização oscilaram entre 1,00 e 3,62 log UFC/mão.



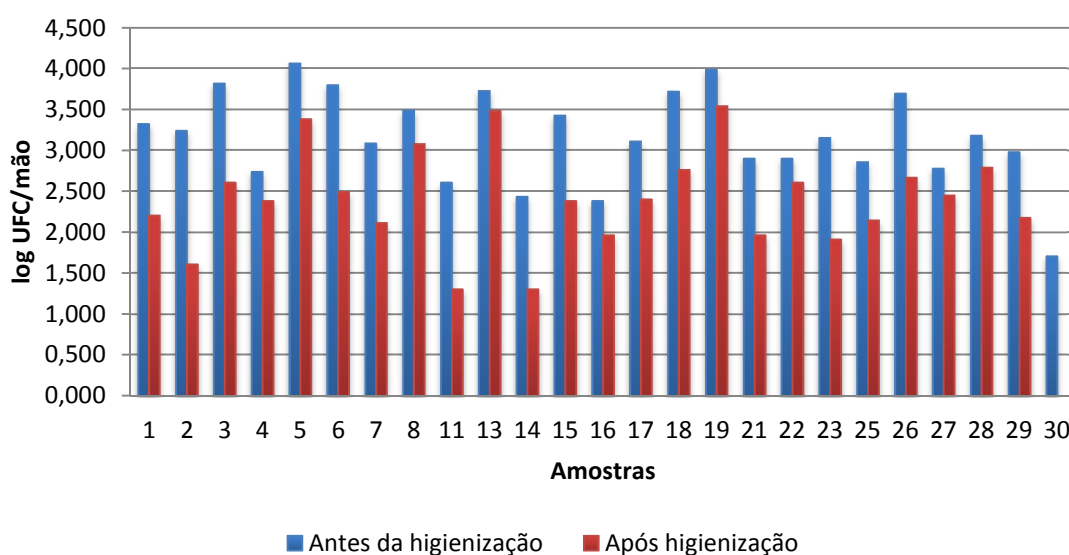
**Figura 2** – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras apenas da palma da mão com higienização completa (B1).

A figura 3 ilustra os resultados obtidos para as amostras recolhidas de três zonas da mão, antes e após uma higienização parcial – sabonete antimicrobiano – (A2). Os valores antes da higienização variaram entre 1,85 e 5,03 log UFC/mão, e após a higienização variaram entre 1,30 e 4,97 log UFC/mão.



**Figura 3** – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras de três zonas da mão com higienização parcial (A2).

Na figura 4 podem ser observados os resultados obtidos para as amostras recolhidas da palma da mão, antes e após uma higienização parcial (B2). Antes da higienização, obtiveram-se valores entre 1,70 e 4,06 log UFC/mão. Após a higienização, os valores variaram entre 1,30 e 3,54 log UFC/mão.



**Figura 4** – Microrganismos mesófilos aeróbios em amostras da palma da mão com higienização parcial (B2).

À exceção das amostras de tipo B1, em todas as outras registou-se um aumento no número de microrganismos após a higienização. Estes aumentos ocorreram em 6,67, 10 e 13,33% das amostras, respetivamente para os tipos de recolha A1, A2 e B2. Estes resultados poderão ser explicados por contaminação após a lavagem das mãos, quer seja por tocar na roupa, na cara, ou em qualquer superfície de trabalho. A ausência destes resultados em amostras do tipo B1 poderá ser explicada pelo facto de, neste tipo de recolha, para além de se ter utilizado o desinfetante à base de álcool, que conduz a uma maior redução de microrganismos, a recolha da amostra corresponder apenas à palma da mão, desprezando assim os microrganismos presentes sob as unhas e no contorno dos dedos. Se houve contaminação após a lavagem e antes da utilização do desinfetante, este último poderá ter conduzido à redução dessa contaminação, e mesmo que o desinfetante não tenha sido corretamente utilizado em todas as zonas da mão, apenas a palma foi amostrada.

Para além da possibilidade de contaminação após lavagem das mãos, o estado físico destas também pode explicar o aumento das contagens após higienização. Quando a pele, a barreira de proteção das mãos, está danificada, há possibilidade de que, no processo de esfregar as mãos uma na outra, os microrganismos presentes nas camadas mais profundas da pele atinjam a superfície, levando a um aumento na microbiota recolhida. Em 6 das nove amostras em que se observou um aumento na contagem de microrganismos após higienização, as mãos dos colaboradores apresentavam danos físicos, como pequenas feridas ou cortes, ou ressecamento da pele.

Apesar de se ter utilizado um desinfetante à base de álcool após a lavagem com o sabonete nas recolhas de tipo A1, o aumento de contagens após a desinfecção das mãos foi também observado por outros investigadores (Hansen e Knochel, 2005). Dos dois casos observados, num o colaborador apresentava feridas nas cutículas, o que poderá explicar o aumento de contagens, mas o outro não apresentava qualquer dano na pele. Neste último caso poderá ter ocorrido uma contaminação após a lavagem das mãos, seguida de uma incorreta utilização do desinfetante. O facto de a amostra ter sido recolhida não só da palma da mão mas também de zonas que são muitas vezes descuidadas durante a lavagem, como a zona entre os dedos e sob as unhas, poderá ter permitido a ocorrência de valores mais elevados.

É importante notar que as maiores reduções observadas, correspondendo a 100%, apenas ocorreram nas recolhas de tipo B1 (amostras 22, 25 e 29) e B2 (amostra 30). Estas elevadas reduções podem estar relacionadas com o facto de, nestes tipos de recolha, a amostra estar limitada à palma da mão.

O valor máximo, em UFC/mão, obtido para microrganismos aeróbios antes da higienização das mãos, foi de  $9,5 \times 10^5$ , o que representa um valor elevado, e o valor mínimo foi de 40, ambos os valores correspondendo a recolhas de tipo A1. Mesmo apresentando valores elevados de contaminação, este estudo não atingiu valores superiores a  $10^6$  UFC/mão, ao contrário do estudo feito por Coelho *et al.* (2010), em que se encontraram amostras que atingiram e superaram esse valor.

Após a higienização, o valor máximo obtido foi de  $9,3 \times 10^4$  UFC/mão, correspondendo a uma recolha de tipo A2, e o valor mínimo foi de 0 UFC/mão, em recolhas de tipo B1 e B2. É importante notar que estes dois últimos tipos de recolha

corresponderam à amostragem apenas da palma da mão que, como já foi mencionado, dá-nos uma ideia limitada da contaminação total das mãos.

Uma vez que não foi encontrada na literatura consultada legislação que defina critérios microbiológicos para as mãos de manipuladores de alimentos, para este estudo foram adotados valores de referência. Estes valores foram definidos de acordo com Litz *et al.* (2007), em que se consideraram seguros valores inferiores a  $10^4$  UFC/mão (4 log UFC/mão) para contagens de microrganismos mesófilos aeróbios, e inferiores a  $10^2$  UFC/mão (2 log UFC/mão) para *S. aureus*. Os autores não definiram limites para coliformes totais por não terem isolado este grupo de microrganismos no seu estudo. Porém, para o presente trabalho, serão considerados seguros níveis de contagens de coliformes totais inferiores a  $10^3$  UFC/mão (3 log UFC/mão).

Tendo em conta os critérios microbiológicos estipulados para microrganismos mesófilos aeróbios, é possível verificar na tabela 3 que, apesar de haver uma percentagem de amostras positivas de cerca de 90% ou superior, em todos os tipos de recolha, não só antes mas também após a higienização, apenas 14,16% (17/120) do total das amostras antes da higienização, e 2,50% (3/120) após a higienização, apresentaram valores superiores ao limite definido para este estudo. A tabela 3 indica também o número de amostras com valores superiores ao limite, para cada tipo de recolha, e é possível verificar que os valores mais elevados foram observados nas recolhas de tipo A, em que a amostra foi recolhida de várias zonas da mão.

Os dados da tabela 3 indicam também reduções mais significativas após a higienização, quando a amostra é recolhida apenas da palma da mão, com uma redução do número de amostras positivas de 30 para 27, e de 25 para 24, quando são utilizados os tipos de recolha B1 e B2, respetivamente. A tabela indica ainda uma menor percentagem de amostras com valores superiores ao limite definido nos dois tipos de recolha anteriormente mencionados, sendo esta nula antes e após a lavagem em B1, e de 3,33% antes e nula após a higienização em B2. Na recolha de tipo A1, em que é utilizado o desinfetante com álcool, a percentagem de valores superiores ao limite diminuiu de 33,33%, antes da higienização, para nula, após a higienização. Já no caso da recolha de tipo A2, em que apenas se utilizou o sabonete antimicrobiano, esses valores passaram de 20,00%, antes da higienização, para 11,11%, após higienização.

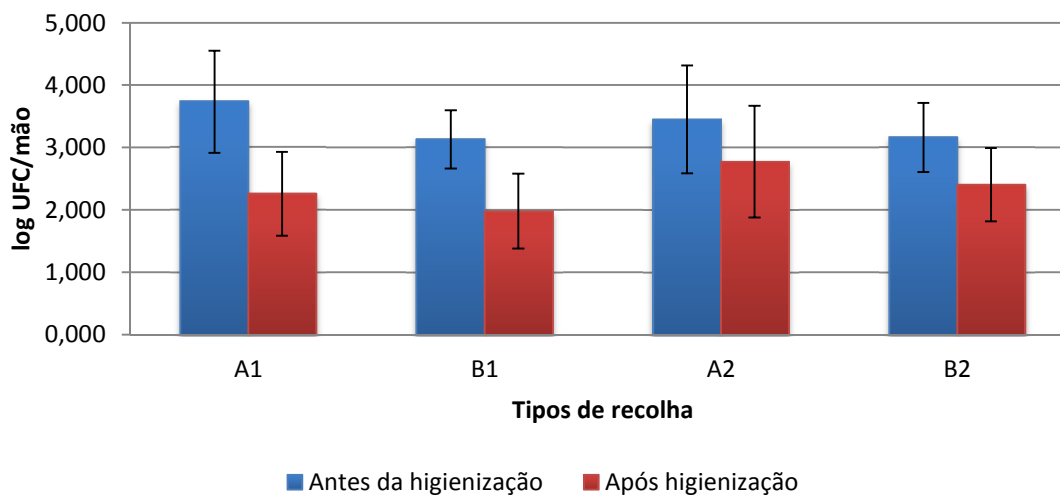
As reduções obtidas, na sua maioria, foram suficientes para manter as contagens abaixo do limite microbiológico.

**Tabela 3** – Amostras nas quais foram quantificados microrganismos mesófilos aeróbios com valores superiores ao limite (4 log UFC/mão).

	Amostras Positivas		Amostras com $\geq 4$ log UFC/mão	
	Nº	%	N	%
<b>A1</b>				
Antes da higienização	28	93,33	10	35,71
Após a higienização	28	93,33	0	0,00
<b>B1</b>				
Antes da higienização	30	100,00	0	0,00
Após a higienização	27	90,00	0	0,00
<b>A2</b>				
Antes da higienização	27	90,00	6	22,22
Após a higienização	27	90,00	3	11,11
<b>B2</b>				
Antes da higienização	25	83,33	1	4,00
Após a higienização	24	80,00	0	0,00

A figura 5 evidencia as médias obtidas nos diferentes tipos de recolha, para microrganismos mesófilos aeróbios. Foi com o tipo de recolha A1 (amostra da palma das mãos, contorno dos dedos e sob as unhas; lavagem das mãos com sabonete antimicrobiano e desinfetante à base de álcool) que se obtiveram maiores valores de UFC/mão antes da higienização das mãos, obtendo-se uma média logarítmica de  $3,73 \pm 0,82$  log UFC/mão. Este valor médio elevado foi seguido pelo da recolha de tipo A2 ( $3,45 \pm 0,86$  log UFC/mão), em que também houve recolha de amostras da palma da mão, contorno dos dedos e sob as unhas. O facto destes dois tipos de recolha apresentarem os valores mais elevados de microrganismos mesófilos aeróbios, vai de encontro com a sugestão de McGinley *et al.* (1988) da importância da região sob as unhas para a transmissão de microrganismos pelas mãos. O mesmo acontece com a zona entre os dedos (Batista e Saraiva, 2003). Desta forma, faz sentido que os dois tipos

de recolha em que a amostra é recolhida não só da palma da mão, mas também destas zonas, apresentem maiores concentrações microbianas.



**Figura 5** – Médias logarítmicas das contagens de mesófilos aeróbios antes e após a higienização, para cada tipo de recolha.

Após a higienização das mãos, os tipos de recolha em que se obtiveram maiores níveis de contaminação foram o A2, com uma média logarítmica de  $2,77 \pm 0,90$  log UFC/mão, e o B2 com uma média de  $2,40 \pm 0,59$  log UFC/mão. A semelhança entre ambos os tipos de recolha é o facto de as mãos terem sido lavadas apenas com sabão antibacteriano, sem ter sido utilizado, posteriormente, o desinfetante à base de álcool. Uma vez que o álcool tem um elevado poder antimicrobiano, a sua utilização terá funcionado como um reforço da atividade antimicrobiana do sabonete, levando a uma maior redução de microrganismos mesófilos aeróbios das mãos nas recolhas de tipo A1 e B1. A razão para o valor de A2 ser um pouco superior ao de B2 poderá estar relacionado com o facto de as amostras do tipo A2 terem sido recolhidas da palma da mão, contorno dos dedos e sob as unhas, enquanto em B2 foram recolhidas apenas da palma da mão.

Observando as médias das reduções para cada tipo de recolha, confirma-se a importância do tipo de amostragem e dos agentes de higienização utilizados. Os valores foram superiores quando se utilizou o sabonete antimicrobiano seguido do desinfetante à base de álcool (A1 e B1) e inferiores quando se utilizou apenas o sabonete (A2 e B2).



Um ligeiro aumento de B2 em relação a A2, poderá estar relacionado com o facto das recolhas de tipo B serem limitadas à palma da mão, eliminando assim zonas que poderão apresentar elevada contaminação.

## **2. *Escherichia coli* e coliformes totais**

Neste estudo não foram isoladas bactérias da espécie *Escherichia coli*, mas obtiveram-se alguns resultados positivos para coliformes totais.

Os resultados positivos obtidos para este grupo de microrganismos foram bastante reduzidos, tendo sido observados apenas em 16,67, 10,00, 23,33 e 3,33% das amostras, respetivamente aos tipos de recolha A1, B1, A2 e B2, antes da higienização. Após higienização, apenas se observou uma amostra positiva (3,33%) na recolha de tipo A2.

Os intervalos de valores obtidos para A1, B1 e A2, antes da higienização, foram 1,00 a 5,30, 1,00 a 1,30 e 1,00 a 2,80 log UFC/mão, respetivamente, e em B2 apenas se obteve uma amostra positiva, correspondendo a 2,63 log UFC/mão. Apenas em A2 se observou uma amostra positiva de 1,30 log UFC/mão após higienização das mãos. Assim, as reduções observadas foram de praticamente 100% em todos os tipos de recolha, o que sugere uma boa eficiência dos agentes usados na higienização.

A tabela 4 indica que a percentagem de amostras positivas foi relativamente baixa, observando-se os maiores valores nas recolhas de tipo A1 (16,67%) e A2 (23,33%). Percentagens mais elevadas de amostras positivas nestes dois tipos de recolha poderão estar relacionadas com o facto de a amostra ter sido recolhida de várias zonas da mão, e não só da palma.

Tendo em conta que o limite máximo estabelecido para coliformes totais foi de valores inferiores a 3 log UFC/mão, esse critério apenas foi ultrapassado em duas amostras (40,00%), antes da lavagem das mãos, na recolha de tipo A1, o que poderá também estar relacionado com a área de amostragem da mão. A média destes dois valores acima do limite é de  $5,20 \pm 0,10$  log UFC/mão, o que corresponde a contaminações bastante elevadas. Porém, todos os restantes resultados positivos foram inferiores ao limite microbiológico estipulado para este grupo de microrganismos.

**Tabela 4** – Amostras nas quais foram quantificados coliformes totais com valores superiores ao limite (3 log UFC/mão).

	Amostras positivas		Amostras com > 3 log UFC/mão	
	Nº	%	Nº	%
<b>A1</b>				
Antes da higienização	5	16,67	2	40,00
Após a higienização	0	0,00	0	0,00
<b>B1</b>				
Antes da higienização	3	10,00	0	0,00
Após a higienização	0	0,00	0	0,00
<b>A2</b>				
Antes da higienização	7	23,33	0	0,00
Após a higienização	1	3,33	0	0,00
<b>B2</b>				
Antes da higienização	1	3,33	0	0,00
Após a higienização	0	0,00	0	0,00

Na tabela 5 é possível observar que as médias logarítmicas mais elevadas, antes da higienização das mãos, ocorreram nas recolhas de tipo A1 ( $3,19 \pm 1,71$  log UFC/mão) e nas recolhas de tipo B2 ( $2,63 \pm 0,00$  log UFC/mão).

Após a higienização, apenas se observaram amostras positivas para a recolha de tipo A2, com uma média logarítmica de  $1,30 \pm 0,00$  log UFC/mão. Este facto poderá estar relacionado com as características do tipo de recolha, em que as mãos são lavadas apenas com sabonete antimicrobiano, mas a recolha da amostra abrange várias zonas da mão, e não apenas a palma. Assim, as reduções foram de 100% em todos os tipos de recolha, exceto em A2.

É importante salientar que apenas no tipo de recolha A2 se observou um aumento no número de contagens após a higienização das mãos, em 3,33% das amostras, o que corresponde a apenas uma amostra. Nessa única amostra, não se detetou contaminação antes da lavagem, mas após esse processo observou-se uma contagem de 10 UFC/mão. Este resultado não esteve relacionado com danos na pele das mãos, mas poderá ter estado relacionado com a utilização apenas de sabonete e com contaminação após a lavagem. Importa também reparar que esta amostra correspondeu não só à palma

da mão, mas também ao contorno dos dedos e sob as unhas, o que poderá explicar a ocorrência desta contaminação posterior à higienização.

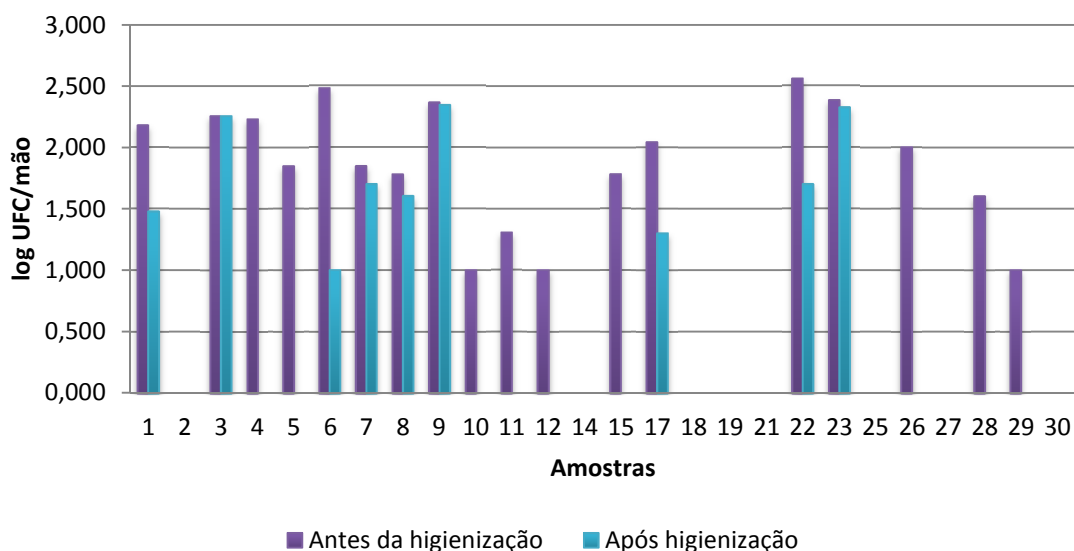
**Tabela 5** – Médias logarítmicas das contagens de coliformes totais antes e após a higienização, para cada tipo de recolha.

	Média (log UFC/mão)	Desvio-Padrão
<b>A1</b>		
Antes da higienização	3,19	1,71
Após higienização	0,00	0,00
<b>B1</b>		
Antes da higienização	1,10	0,14
Após higienização	0,00	0,00
<b>A2</b>		
Antes da higienização	1,62	0,65
Após higienização	1,30	0,00
<b>B2</b>		
Antes da higienização	2,63	0,00
Após higienização	0,00	0,00

### 3. *Staphylococcus aureus*

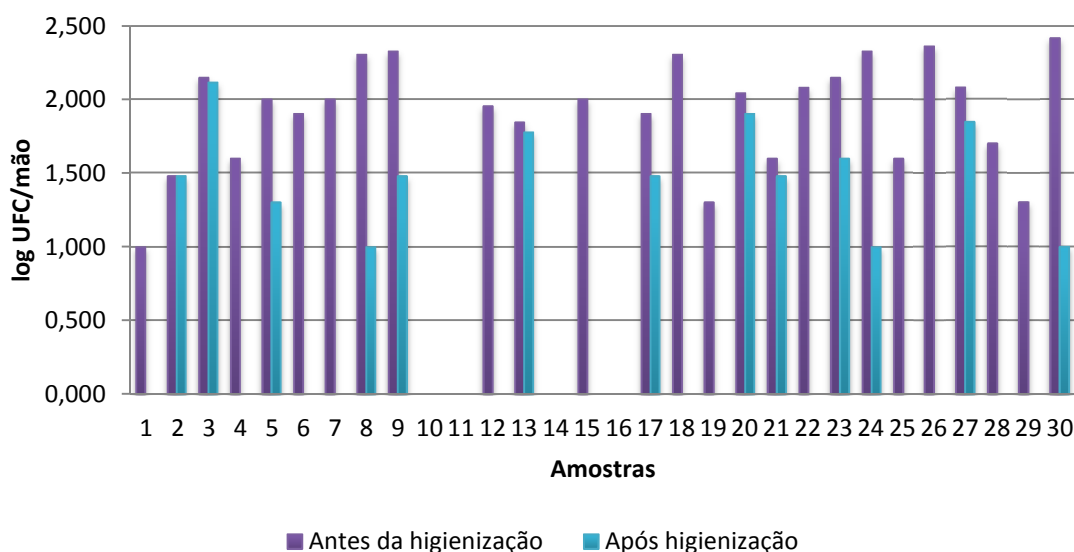
A figura 6 ilustra os resultados obtidos para a recolha de tipo A1 antes e após a higienização das mãos.

Antes da higienização das mãos, os valores obtidos variaram entre 1,00 e 2,56 log UFC/mão, e após higienização obtiveram-se valores dentro do intervalo 1,00 e 2,34 log UFC/mão. Em 50,00% das amostras positivas antes da higienização das mãos observou-se uma redução máxima de 100,00%. Apenas em 5,56% (1/18) das amostras positivas não se observou qualquer redução.



**Figura 6** – *S. aureus* em amostras de três zonas da mão com higienização completa (A1)

Na figura 7 podem-se observar os resultados obtidos para a recolha de tipo B1 antes e após a higienização para cada amostra. Antes da higienização das mãos obtiveram-se valores entre 1,00 e 2,41 log UFC/mão, e após higienização o valor mínimo observado foi também 1,00 log UFC/mão e o valor máximo foi 2,11 log UFC/mão. Em 50,00% das amostras positivas antes da higienização das mãos a redução foi máxima, de 100,00%, e apenas em 3,85% (1/26) das amostras positivas não se observou qualquer redução.



**Figura 7** - *S. aureus* em amostras apenas da palma da mão com higienização completa (B1)

Os resultados positivos obtidos para as recolhas de tipo A2 e B2 foram muito reduzidos (tabela 6), e os valores variaram entre 1,00 e 2,08, e 1,00 e 1,85 log UFC/mão, respetivamente

Tal como nos outros dois grupos de microrganismos, também para *S. aureus* se observaram aumentos no número de contagens após a higienização. Esses aumentos ocorreram em 13,33 e 30% das amostras, respetivamente para os tipos de recolha A1 e A2.

Estes aumentos no número de microrganismos após a lavagem das mãos poderão estar relacionados com um procedimento incorreto de lavagem das mãos, com contaminação após a higienização - tendo em conta que é frequente as pessoas serem portadoras de *S. aureus* no nariz e na boca e poder haver contacto com essas zonas após lavagem das mãos -, ou com o facto de, em 7 dos 13 casos em que esta ocorrência se observou os manipuladores apresentarem a pele das mãos danificada. Uma das principais situações em que se encontra *S. aureus* na pele é quando esta apresenta feridas, e por isso, mesmo que as mãos sejam lavadas, o ato de fricção das mãos uma na outra pode conduzir a uma ascensão das células bacterianas do interior da ferida à superfície da pele. A obtenção destas contagens apenas em recolhas de tipo A pode estar relacionada com o facto de, nestas, a recolha corresponder a diferentes zonas da mão.

Para este microrganismo, o valor máximo obtido, em UFC/mão, antes da higienização das mãos, foi de 360 UFC/mão, e após higienização foi de 220 UFC/mão, correspondendo ambos os valores a uma recolha de tipo A1. Ambos os valores são bastante elevados, tendo em conta que se trata de um microrganismo patogénico. Em todos os tipos de recolha verificou-se, em várias amostras, a total ausência de *S. aureus*, especialmente em A2 e B2 (tabela 6).

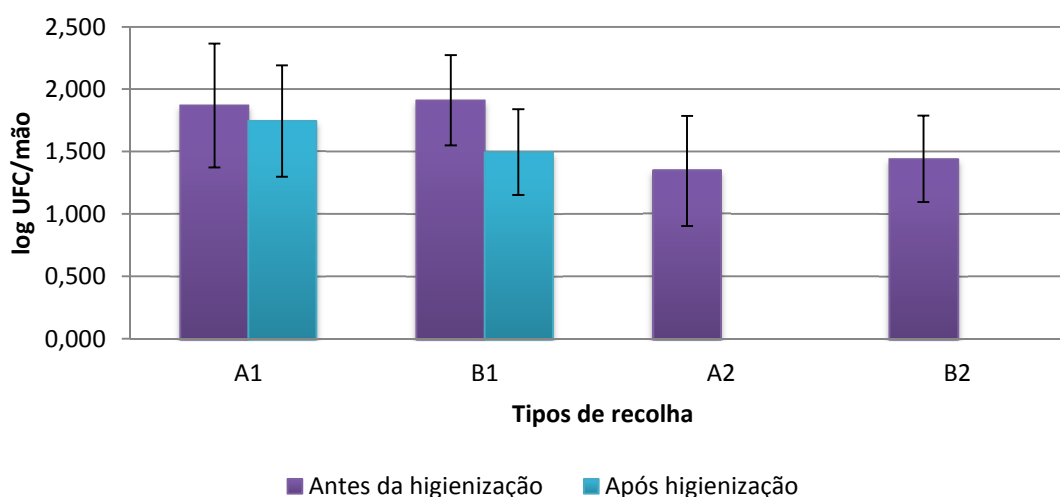
**Tabela 6** – Amostras nas quais foram quantificadas bactérias da espécie *S. aureus* com valores superiores ao limite (2 log UFC/mão).

	Amostras positivas		Amostras com $\geq 2$ log UFC/mão	
	Nº	%	Nº	%
<b>A1</b>				
Antes da higienização	18	60,00	9	50,00
Após a higienização	9	30,00	3	33,33
<b>B1</b>				
Antes da higienização	26	86,67	14	53,85
Após a higienização	13	43,33	1	7,69
<b>A2</b>				
Antes da higienização	4	13,33	1	25,00
Após a higienização	0	0,00	0	0,00
<b>B2</b>				
Antes da higienização	3	10,00	0	0,00
Após a higienização	0	0,00	0	0,00

Tendo em conta que o limite definido para *S. aureus* são valores inferiores a 2 log UFC/mão, analisando a tabela 6 podemos observar que o número de amostras com valores acima do limite são significativas para alguns tipos de amostra, nomeadamente A1 e B1. Em A1, o número de amostras com contagens acima do limite foi de 9 em 18 amostras positivas (50,00%), antes da higienização, e de 3 em 9 (33,33%), após lavagem das mãos. No caso de B1, o número de amostras acima do limite foi um pouco superior ao observado em A1 antes da higienização, correspondendo a 53,85% (14/26), mas bastante inferior após esse processo, sendo de 7,69% (1/13).

A figura 8 ilustra os valores médios obtidos em cada tipo de recolha, para *S. aureus*. Antes da higienização, é visível que as recolhas de tipo A1 e B1 apresentaram as médias logarítmicas mais elevadas, sendo estas  $1,87 \pm 0,50$  log UFC/mão e  $1,91 \pm 0,36$  log UFC/mão, respetivamente. Porém, esperavam-se valores mais elevados nos dois tipos de recolha em que a amostra abrangia não só a palma da mão mas também o contorno dos dedos e as unhas, pois foi abrangida uma maior área da mão.

Em relação aos tipos de recolha A2 e B2, o primeiro apresentou uma média de  $1,35 \pm 0,44$  log UFC/mão, e o segundo apresentou uma média ligeiramente superior, de  $1,44 \pm 0,35$  log UFC/mão.



**Figura 8** - Médias logarítmicas das contagens de *S. aureus* antes e após a higienização, para cada tipo de recolha.

Quando se observa os resultados após a higienização das mãos, pode-se verificar que os valores médios mais elevados correspondem às recolhas de tipo A1 ( $1,74 \pm 0,45$  log UFC/mão), e B1 ( $1,50 \pm 0,34$  log UFC/mão). Estes dois tipos de recolha assemelham-se pelo facto de, em ambos, se ter utilizado para lavar as mãos tanto o sabonete antimicrobiano como o desinfetante à base de álcool. Mais uma vez, uma média superior em A1, relativamente a B1, poderá dever-se ao facto de, no primeiro, a área das mãos amostrada ser maior, possibilitando uma maior recolha de microrganismos. Em relação aos outros tipos de recolha, não se observaram contagens após a higienização das mãos em ambos.

Em termos de reduções, estas foram de 100% para as recolhas de tipo A2 e B2. Nas recolhas de tipo A1 e B1 as reduções corresponderam a  $1,00 \pm 0,71$  e  $1,16 \pm 0,76$  log UFC/mão (73,52 e 76,98% em UFC/mão), respetivamente.

#### 4. Análise de Variância (ANOVA): dois fatores

Utilizou-se, neste estudo, o teste ANOVA a dois fatores, o qual tem como objetivo avaliar se as diferenças observadas entre as médias de grupos que foram separados em duas variáveis independentes, ou fatores, são estatisticamente significativas. Para tal são necessárias duas variáveis independentes, que no presente trabalho correspondem ao tipo de higienização e à área da mão amostrada, e uma variável dependente ou contínua, que neste estudo corresponde à taxa de redução, de valores em UFC/mão, da contaminação das mãos.<sup>6</sup>

Para este teste assumiu-se que a variável independente é um intervalo ou uma taxa e que tem uma distribuição aproximadamente normal para cada combinação de níveis das variáveis independentes, e que as variâncias dos grupos formados por diferentes combinações de níveis das variáveis independentes são homogêneas.<sup>6</sup> Assim, o teste ANOVA a dois fatores permite que se coloquem três hipóteses:

- $H_0$ : Não há efeito principal do fator tipo de higienização
- $H_0$ : Não há efeito principal do fator área da mão
- $H_0$ : Não há combinação de efeitos

O que se pretendeu com a execução deste teste, neste estudo, foi verificar se estas hipóteses serão aceites ou rejeitadas. Desta forma poder-se-á obter uma conclusão acerca da importância da variação do tipo de higienização e da área da mão amostrada no estudo da eficácia da higiene das mãos por manipuladores de alimentos.

Através do teste obteve-se a estatística descritiva para os resultados deste estudo, a qual permite avaliar, através da observação das médias das taxas de redução, qual o tipo de higienização e área de recolha da mão que melhor se adequa para cada microrganismo pesquisado.

As tabelas 7 a 9 apresentam a estatística descritiva obtida para cada tipo de microrganismo. Estas tabelas fornecem a média e o desvio padrão para os grupos que foram divididos pelas variáveis independentes, assim como o “Total”, que corresponde às médias e desvios padrão para os grupos divididos apenas por uma variável independente ou mesmo por nenhuma.<sup>6</sup>

---

<sup>6</sup> Fonte: Laerd statistics, acedido a 21 de setembro de 2011, disponível em <http://statistics.laerd.com/spss-tutorials/two-way-anova-using-spss-statistics.php>



Observando a tabela 7, referente a mesófilos aeróbios, verifica-se que as médias de redução dos microrganismos estudados são superiores quando a higienização é completa, e que dentro desta são superiores os valores referentes à colheita de amostras apenas da área parcial da mão, o que é reforçado pelos valores observados no “Total”. Na tabela 8, em que são apresentados os valores referentes a coliformes totais, as observações são semelhantes, indicando reduções superiores quando é feita uma higienização completa e quando a amostra corresponde à área parcial da mão. Estes resultados indicam, mais uma vez, que a utilização de um desinfetante à base de álcool como reforço do sabonete antimicrobiano permite uma maior ação de remoção de microrganismos, e que a amostragem da palma da mão, não abrangendo os microrganismos presentes noutras áreas, conduz a falsos resultados relativos à redução da contaminação.

**Tabela 7** - Estatística descritiva referente a mesófilos aeróbios

<b>Tipo de higienização</b>	<b>Área da mão</b>	<b>Média da taxa de redução (UFC/mão)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>N</b>
Higienização completa	Área parcial	0,86	0,22	30
	Área total	0,85	0,23	28
	Total	0,86	0,22	58
Higienização parcial	Área parcial	0,79	0,17	25
	Área total	0,67	0,27	27
	Total	0,73	0,23	52
Total	Área parcial	0,83	0,20	55
	Área total	0,76	0,26	55
	Total	0,80	0,23	110

**Tabela 8** - Estatística descritiva referente a coliformes totais

<b>Tipo de higienização</b>	<b>Área da mão</b>	<b>Média da taxa de redução (UFC/mão)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>N</b>
Higienização completa	Área parcial	1,00	0,00	3
	Área total	1,00	0,00	5
	Total	1,00	0,00	8
Higienização parcial	Área parcial	1,00	0,00	1
	Área total	0,96	0,09	7
	Total	0,97	0,09	8
Total	Área parcial	1,00	0,00	4
	Área total	0,98	0,07	12
	Total	0,98	0,06	16

Na tabela 9, referente a *S. aureus*, verificam-se resultados diferentes, os quais indicam uma maior percentagem de redução quando é feita uma higienização parcial das mãos. Este resultado poderá estar relacionado com a fricção efetuada quando se utiliza o desinfetante à base de álcool na higienização completa, a qual poderá trazer à superfície da pele esta bactéria residente, quando os manipuladores são portadores, e principalmente quando apresentam danos na pele. Porém, também para esta bactéria a colheita da amostra apenas de uma área parcial da mão apresenta maiores reduções, o que vai ao encontro da conclusão de que este tipo de amostragem não indica uma redução real das bactérias em estudo.

**Tabela 9** - Estatística descritiva referente a *Staphylococcus aureus*

<b>Tipo de higienização</b>	<b>Área da mão</b>	<b>Média da taxa de redução (UFC/mão)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>N</b>
Higienização completa	Área parcial	0,77	0,34	26
	Área total	0,74	0,38	18
	Total	0,76	0,35	44
Higienização parcial	Área parcial	1,00	0,00	3
	Área total	1,00	0,00	4
	Total	1,00	0,00	7
Total	Área parcial	0,79	0,33	29
	Área total	0,78	0,36	22
	Total	0,79	0,34	51

Através do teste ANOVA a dois fatores foi também possível obter resultados do teste de Levene, o qual testa a hipótese de que a variância da variável dependente é igual em todos os grupos<sup>6</sup>, fornecendo-nos o valor da significância (valor  $P$ ). Quando esse valor é  $>0,05$  ( $\alpha$  = valor crítico definido) a hipótese testada é aceite, pois há homogeneidade das variâncias da variável dependente em todos os grupos, mas quando a significância é  $<0,05$  a hipótese testada é rejeitada, pois a variância entre grupos é significativamente diferente.

Apenas para *S. aureus* se obteve uma significância  $<0,05$  ( $P=0,002$ ), o que indica que apenas para esta bactéria se observou uma diferença significativa da variância entre os grupos. Tanto para mesófilos aeróbios como para coliformes totais as significâncias obtidas foram superiores a 0,05 ( $P=0,349$  e  $P=0,146$ , respetivamente), indicando homogeneidade das variâncias da redução de contaminação em todos os grupos.

A tabela 10 apresenta os resultados do teste ANOVA, o qual fornece os valores das significâncias para cada grupo de microrganismos, de forma a se poder tirar conclusões acerca da existência de diferenças significativas nas médias entre os grupos para as duas variáveis independentes (tipo de higienização e área amostrada) e para a interação entre ambas (tipo de higienização x área amostrada).

Os valores indicam que para microrganismos mesófilos aeróbios há uma diferença estatisticamente significativa entre as médias dentro dos tipos de higienização utilizados ( $P = 0,004$ ), ou seja, os resultados diferem bastante quando se usa só o sabonete e quando se utiliza também um desinfetante à base de álcool. Para a variável área das mãos,  $P = 0,120$ , não se pode afirmar que a diferença entre as médias seja muito significativa ( $P > 0,05$ ). Uma menor significância foi observada na interação entre ambas as variáveis ( $P = 0,205$ ), o que indica que não há uma relação significativa entre a área da mão em que se recolhe a amostra e o tipo de higienização praticado.

**Tabela 10** – Resultados do teste ANOVA a dois fatores

Fonte	Significância		
	Mesófilos aeróbios	Coliformes totais	<i>S. aureus</i>
Tipo de Higienização	0,004	0,687	0,083
Área	0,120	0,687	0,903
Tipo de Higienização * Área	0,205	0,687	0,903

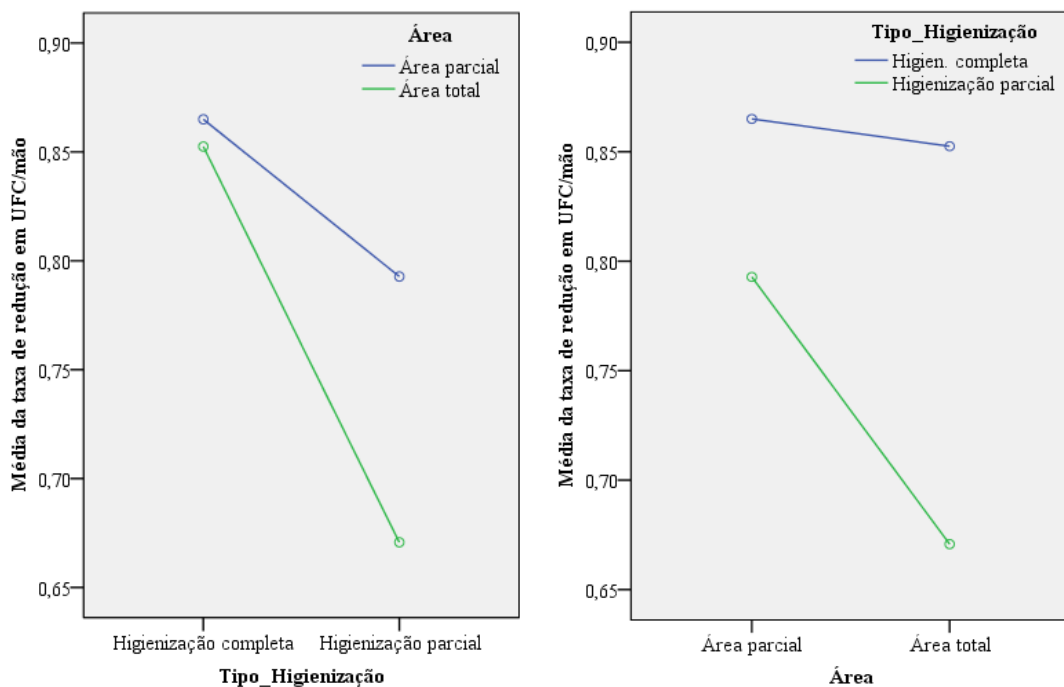
Relativamente aos coliformes totais, podemos observar valores de significância superiores a 0,05 para cada variável e para a interação entre estas, o que indica não haver uma relação entre o tipo de higienização utilizado e a área da mão de que é recolhida a amostra.

Os valores obtidos para *S. aureus* também indicam homogeneidade das variâncias dentro das duas variáveis e entre elas. Esta homogeneidade é mais acentuada dentro da variável área da recolha da mão e na interação entre ambas as variáveis, apresentando ambas uma significância de 0,903. Dentro da variável tipo de higienização a diferença entre as médias não é muito significativa, mas a homogeneidade entre elas é menor do que nos outros casos ( $P = 0,083$ ).

As figuras 9 a 11 ilustram os perfis de resposta para os três tipos de microrganismos isolados. Estes gráficos fornecem uma boa ilustração gráfica dos resultados obtidos, e fornecem informação sobre a existência, ou não, de um efeito de interação pela observação do grau de paralelismo das linhas. Assim, quando as linhas são paralelas não há interação entre os fatores, e se as linhas não são paralelas, e se se cruzarem, há possibilidade de interação.

Observando a figura 9, referente a microrganismos mesófilos aeróbios, podemos verificar que em nenhum dos gráficos as linhas são totalmente paralelas, mas no gráfico do lado direito o grau de paralelismo é maior que no gráfico do lado esquerdo. No gráfico da esquerda, é visível a existência de médias mais baixas quando é feita uma higienização parcial, principalmente quando é recolhida a amostra da área total da mão. Porém, as médias das taxas de redução são elevadas, e assemelham-se bastante quando é feita uma higienização completa, independentemente da área. Desta forma, é possível sugerir a existência de alguma interação entre os dois fatores. O gráfico permite ainda

observar uma elevada variância dentro da variável tipo de higienização. No gráfico da direita, o grau de paralelismo é superior e verifica-se um maior afastamento entre as linhas, o que indica que não há interação entre as variáveis. Este gráfico também permite observar médias mais elevadas quando é feita uma higienização completa das mãos, variando pouco entre recolha da área total e recolha da área parcial da mão. É de notar que a variância dentro da variável área da mão, no geral, é menor do que na variável tipo de higienização.



**Figura 9** - Gráficos de perfil de resposta referentes a mesófilos aeróbios

Na figura 10, referente a coliformes totais, podemos verificar que as linhas se cruzam, o que indica interação entre as variáveis, e que ambos os gráficos são iguais e indicam uma variância reduzida dentro das variáveis. Ambos os gráficos ilustram médias de redução de 100%, exceto quando é feita uma higienização parcial e a amostra é recolhida da área total da mão.

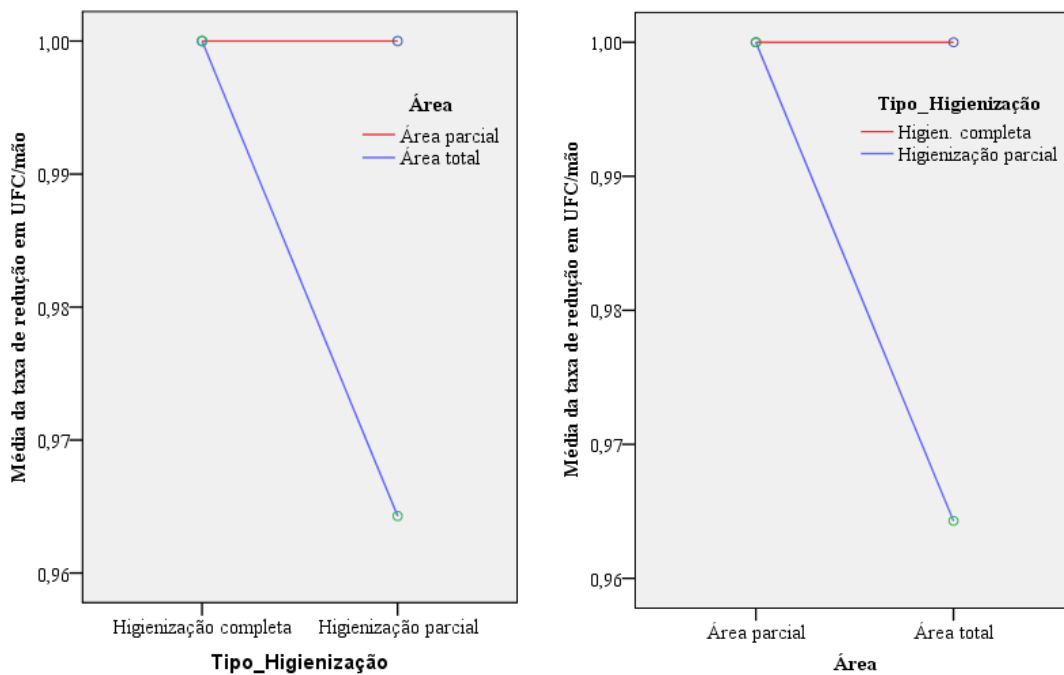


Figura 10 - Gráficos de perfil de resposta referentes a coliformes totais

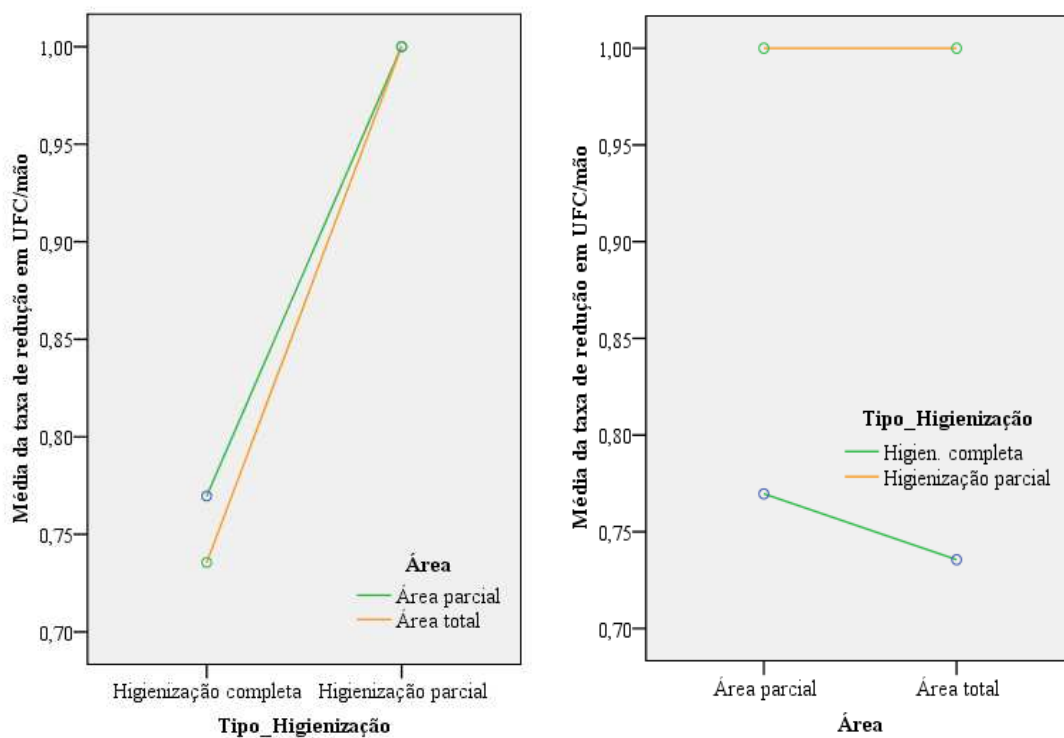


Figura 11 - Gráficos de perfil de resposta referentes a *Staphylococcus aureus*

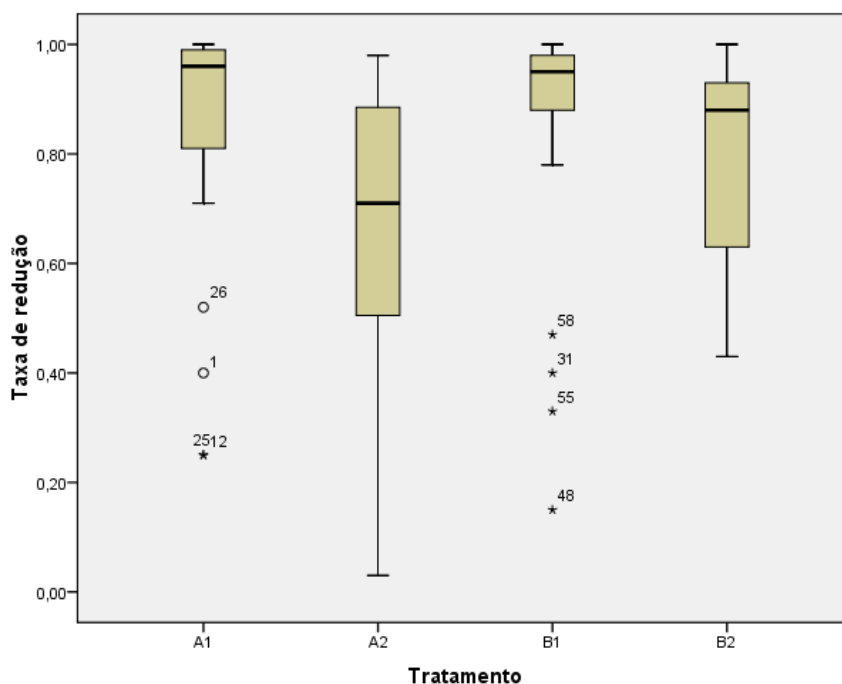
Observando a figura 11, referente a resultados de *S. aureus*, podemos verificar no gráfico da esquerda que as linhas se cruzam, e quase se sobrepõem, o que indica interação entre os fatores. Neste gráfico podemos observar as médias mais elevadas, que correspondem a reduções de 100%, quando é feita uma higienização parcial, independentemente da área da mão de onde é recolhida a amostra. Por oposição, em todas as amostras em que se aplicou uma higienização completa das mãos as reduções foram baixas, por isso as diferenças das médias dentro da variável higienização das mãos não se mostraram tão homogêneas como para a variável área das mãos e a interação entre ambas, tal como se observou na tabela 11. No gráfico da direita, as linhas referentes ao tipo de higienização encontram-se bastante afastadas e quase paralelas, o que indica que não há interação entre os fatores. Neste gráfico observam-se os mesmos resultados que no anterior, ou seja, houve reduções de 100% quando se aplicou a higienização parcial, independentemente da área amostrada, estas foram bastante reduzidas quando se aplicou a higienização completa das mãos, principalmente quando se recolheu as amostras da área total da mão.

## 5. Análise da distribuição dos resultados

Os gráficos de caixas e bigodes permitem obter uma representação gráfica da distribuição de um conjunto de dados com base nalguns parâmetros descritivos, sendo estes a mediana, os quartis superior e inferior e o valor mínimo e máximo dos dados. Os limites superior e inferior dos “bigodes” delimitam o gráfico, e os valores fora desses limites são denominados *outliers* (Tanis, 1987). Pode-se ainda encontrar dois tipos de *outliers*, os moderados, representados por um ponto aberto, e que correspondem a valores que se estendem até um máximo de 1,5 vezes o intervalo inter-quartil, e os *outliers* extremos, representados por um asterisco, e que se estendem até 3 vezes o intervalo inter-quartil. A partir deste tipo de gráfico foi possível avaliar a simetria dos resultados obtidos neste estudo, a sua dispersão e, ainda, a existência ou não de *outliers*.

Nas figuras a seguir representadas pode-se observar a dispersão das taxas de redução da microbiota das mãos após os diferentes tratamentos usados, para os microrganismos pesquisados. A figura 12, relativa a mesófilos aeróbios, mostra uma maior dispersão de resultados quando o tipo de tratamento usado incluiu lavar as mãos apenas com um sabonete antimicrobiano, não se observando *outliers* nestes casos (A2,

B2). Por outro lado, quando a lavagem das mãos incluiu a utilização de um sabonete e posteriormente de um desinfetante com álcool a amplitude de resultados observada é menor, mas observam-se alguns *outliers*, principalmente extremos. Estes extremos, principalmente no tratamento B1, representam casos em que as reduções foram bastante inferiores em relação à mediana. Estes valores tão díspares em relação ao conjunto global podem ser explicados por uma ineficiência na prática da higienização das mãos por parte dos colaboradores correspondentes.



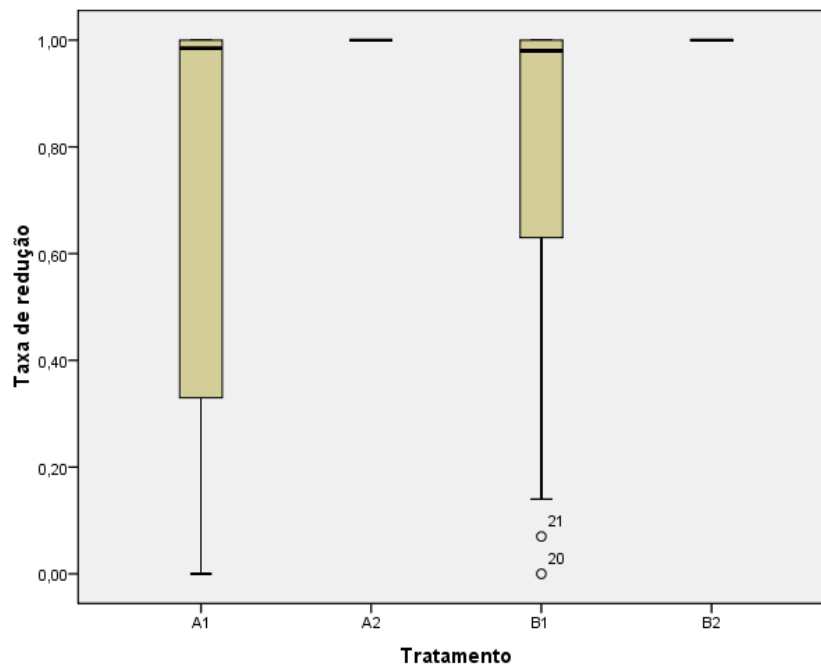
**Figura 12** – Diagrama de extremos e quartis relativo à distribuição dos resultados de mesófilos aeróbios

Relativamente aos coliformes totais observou-se uma homogeneidade nos resultados, não havendo dispersão dos mesmos em nenhum dos tipos de tratamento, uma vez que se obtiveram, em todos eles, taxas de redução de 100%. Apenas no tratamento de tipo A2 houve um caso isolado em que a redução foi de apenas 75%, o que representa um *outlier* extremo e poderá estar relacionado com o facto de corresponder a um colaborador que apresentava alguns cortes nos dedos.

O gráfico de caixas e bigodes referente a *S. aureus* (figura 13) apresenta alguma heterogeneidade nos resultados entre os diferentes tipos de tratamento. Observa-se que quando a lavagem das mãos foi completa (A1, B1), utilizando inicialmente um sabonete



antimicrobiano e posteriormente um desinfetante à base de álcool, registou-se maior dispersão dos resultados, observando-se apenas dois *outliers* moderados no tratamento de tipo B1, em que se amostrou apenas a palma da mão. Nos tratamentos de tipo A2 e B2, em que apenas foi utilizado sabão para a higienização das mãos, não se registou dispersão, pois a redução da contaminação das mãos foi de 100% em todas as amostras.



**Figura 13** - Diagrama de extremos e quartis relativo à distribuição dos resultados de *S. aureus*

## 6. Discussão geral dos resultados

Tal como observado por Andrade *et al.* (2003), neste estudo as amostras recolhidas de manipuladores de alimentos também apresentaram contagens de microrganismos mesófilos aeróbios mais elevadas em relação aos outros grupos microbianos estudados. A não obtenção de maiores reduções para mesófilos aeróbios pode estar relacionada com o facto de este ser um grupo muito heterogéneo de microrganismos e poder englobar não só a microbiota transitória, mas também a residente. É importante salientar que tudo isto depende também da forma como cada manipulador lava as mãos.

Os valores máximos obtidos, em UFC/mão, no total das amostras observadas foram de  $9,5 \times 10^5$  antes da higienização, e  $9,3 \times 10^4$  após higienização, e ambos os

valores foram observados em amostras onde foram pesquisados microrganismos mesófilos aeróbios.

Analisando as médias dos resultados, foi possível concluir, tal como Montville *et al.* (1988), que a utilização de um sabonete antimicrobiano, seguida pela utilização de um desinfetante, promove a redução microbiana. Concluiu-se também que a recolha de amostras não só da palma da mão, mas também do contorno dos dedos e sob as unhas, permite-nos ter uma noção mais aproximada da concentração microbiana da mão, pois não reduz os microrganismos presentes em zonas que geralmente não ficam tão bem lavadas como a palma da mão. Estes factos foram bastante evidentes nos resultados de microrganismos mesófilos aeróbios (tabela 11). O recurso a um teste de análise de variância permitiu inferir que as diferenças das médias das percentagens de redução obtidas para os quatro diferentes tipos de recolha foram significativas apenas para mesófilos aeróbios.

Os resultados obtidos para coliformes totais indicaram uma homogeneidade nas variâncias, entre e dentro de cada variável, não mostrando também qualquer relação entre ambas. Estas observações devem-se ao facto de ter havido uma redução, para a maioria das amostras, de 100%. Desta forma, podemos concluir que microrganismos coliformes totais são facilmente removidos com qualquer um dos dois tipos de higienização.

Algumas das conclusões aplicáveis a mesófilos aeróbios poderão também explicar alguns resultados obtidos para coliformes totais, mas não para *Staphylococcus aureus*. Resultados tão díspares obtidos para esta espécie de bactérias poderão estar relacionados com o facto de estas fazerem parte da microbiota residente das mãos dos manipuladores. No caso de *S. aureus* não se observou uma diferença significativa das variâncias dentro da variável área das mãos, mas sim dentro da variável tipo de higienização. Todas as amostras em que foi aplicada uma higienização parcial tiveram uma redução de 100%, mas nas amostras em que se aplicou uma higienização completa as taxas de redução foram bastante reduzidas, independentemente da área da mão amostrada. O facto de se terem observado maiores reduções quando se utilizou apenas o sabonete para lavar as mãos poderá estar relacionado com o facto de, ao se friccionar as mãos com o desinfetante de álcool, estas bactérias residentes virem à superfície em manipuladores portadores ou que apresentem danos na pele.

A ocorrência de concentrações mais elevadas após higienização, principalmente de *S. aureus*, poderá estar relacionada com o facto de muitos manipuladores apresentarem danos na pele das mãos. Estes resultados foram observados principalmente no tipo de recolha A2 em que não é utilizado o desinfetante à base de álcool e a recolha da amostra corresponde a três zonas da mão. Desta forma, seria importante instruir os manipuladores a utilizar luvas descartáveis quando as suas mãos apresentam alguns danos físicos, e ensiná-los também a utilizá-las de forma correta.

A observação de percentagens de redução pouco satisfatórias após o uso do desinfetante vai de encontro ao observado por Barbara Almanza (2000), que verificou que vários estudos mostraram que estes desinfetantes não reduziram significativamente o número de bactérias presentes nas mãos, e que nalguns casos podem mesmo aumentá-lo. Um aumento da concentração de mesófilos aeróbios e *S. aureus* nas mãos, após utilização de um desinfetante, foi observado neste estudo após amostragens do tipo A1.

Na tabela 11 pode-se observar que, neste estudo, a redução média mais elevada após lavagem das mãos só com o sabonete à base de triclosano foi de  $2,63 \pm 0,00$  log UFC/mão, em B2, para coliformes totais, que fazem parte da microbiota transitória. Este valor fica  $0,17$  log UFC/mão aquém do observado por Kampf e Kramer (2004), que obtiveram reduções de  $2,8$  log UFC/mão no número de bactérias transitórias em mãos lavadas com um sabonete à base de triclosano. Por outro lado, estes autores apenas obtiveram uma redução média de  $0,29$  e  $0,80$  log UFC/mão no número de bactérias residentes, enquanto neste estudo, a microbiota residente representada por *S. aureus* teve uma redução média máxima de  $1,44 \pm 0,35$  UFC/mão, em B2. O facto das reduções mais acentuadas corresponderem ao tipo de recolha B2 poderá estar relacionado com o facto de a amostra corresponder apenas à palma da mão.

Estes resultados, não totalmente satisfatórios, são idênticos a vários outros estudos realizados no âmbito da manipulação alimentar (Leite *et al.*, 1989, Litz *et al.*, 2005, Millezi *et al.*, 2007 Coelho *et al.*, 2010). Em todos eles constatou-se uma ineficiência no procedimento de lavagem das mãos por parte dos manipuladores. Neste estudo, apesar de, na maioria das vezes, a higienização das mãos ser suficientemente eficaz para reduzir as contagens para valores inferiores aos limites, em muitos casos observaram-se reduções pouco consideráveis, o que pode estar relacionado com o procedimento de lavagem das mãos por cada manipulador. Os limites estipulados, de

acordo com Litz *et al.* (2007), são elevados comparativamente com aqueles definidos por Andrade *et al.*, (2003). Este autor estabeleceu como limite máximo para mesófilos aeróbios e coliformes totais 10 UFC/mão (1 log UFC/mão). Se neste estudo tivessem sido estipulados estes limites máximos, todos os valores obtidos para estes microrganismos teriam sido superiores ou iguais ao limite.

Os resultados da interpretação dos dados dos inquéritos em que se registou o nome, função na cozinha, sexo e idade dos manipuladores não indicaram a existência de diferenças entre a carga microbiana em mulheres e homens, cozinheiros e copeiros e maiores e menores que 35 anos. Desta forma não é possível estabelecer grupos com maior consciência da importância de uma correta higienização das mãos.

**Tabela 11** – Médias logarítmicas, e correspondentes desvios-padrão, dos valores obtidos em todos os tipos de recolha, para todos os grupos de microrganismos pesquisados

	Mesóf. aeróbios	DP	Redução UFC/mão	<i>S. aureus</i>	DP	Redução UFC/mão	CT	DP	Redução UFC/mão
<b>A1</b>									
Antes (log UFC/mão, média)	3,73	0,82		1,87	0,50		3,19	1,71	
Após (log UFC/mão, média)	2,26	0,67		1,74	0,45				
Redução (log UFC/mão, média)	1,47	0,92	<b>84,74%</b>	1,00	0,71	<b>73,52%</b>	3,19	1,71	<b>100,00%</b>
<b>B1</b>									
Antes (log UFC/mão, média)	3,13	0,47		1,91	0,36		1,10	0,14	
Após (log UFC/mão, média)	1,98	0,60		1,50	0,34				
Redução (log UFC/mão, média)	1,35	0,71	<b>86,44%</b>	1,16	0,76	<b>76,98%</b>	1,10	0,14	<b>100,00%</b>
<b>A2</b>									
Antes (log UFC/mão, média)	3,45	0,86		1,35	0,44		1,62	0,65	
Após (log UFC/mão, média)	2,77	0,90					1,30	0,00	
Redução (log UFC/mão, média)	0,68	0,48	<b>67,11%</b>	1,35	0,44	<b>100,00%</b>	1,43	0,72	<b>96,43%</b>
<b>B2</b>									
Antes (log UFC/mão, média)	3,16	0,55		1,44	0,35		2,63	0,00	
Após (log UFC/mão, média)	2,40	0,59							
Redução (log UFC/mão, média)	0,85	0,42	<b>63,54%</b>	1,44	0,35	<b>100,00%</b>	2,63	0,00	<b>100,00%</b>

**Legenda:**

DP – Desvio Padrão

CT – Coliformes totais

## V. CONCLUSÕES

Tal como Montville *et al.* (2002), podemos concluir, com este estudo, que uma lavagem das mãos feita de forma apropriada pode reduzir o risco de contaminação bacteriana nas mãos, e que os principais fatores que influenciam a contagem bacteriana são o uso de desinfetantes, o uso de sabonetes, e o método de secagem. Assim, uma incorreta aplicação de cada um deles poderá levar a resultados menos satisfatórios.

Algumas contagens observadas foram elevadas, principalmente antes da higienização das mãos, à exceção de *E. coli* que esteve ausente em todas as amostras. Essa ausência indica que os manipuladores lavam as mãos após uma ida à casa de banho, mas os elevados valores dos restantes microrganismos indicam que esse procedimento poderá não estar a ser posto em prática o número de vezes suficiente.

Tal como descrito por Ayçiçek *et al.* (2004), não há uma forma de medir se as mãos foram lavadas, por isso as agências reguladoras não conseguem forçar a indústria alimentar a assegurar, através de regulação e inspeção, uma correta higienização das mãos por parte dos trabalhadores. Neste estudo foi possível verificar que apesar das empresas na área da restauração se regerem por um sistema HACCP, o qual define um código de boas práticas de higiene pessoal, muitas vezes esse sistema não está bem implementado, e por isso se observam contagens microbianas com uma variação tão ampla entre manipuladores de alimentos que trabalham na mesma empresa. Assim, é importante que as entidades empregadoras na área alimentar tomem uma atitude no sentido de promover uma melhor higiene pessoal por parte dos seus trabalhadores. Para tal deveriam ser implementados programas de formação para elucidar os trabalhadores acerca dos perigos de um incorreta higiene pessoal, assim como de incorretas atitudes na área de trabalho, de forma a elevar o nível da qualidade alimentar e da saúde dos consumidores. Estas formações deveriam também orientar os trabalhadores numa correta prática de higiene das mãos, assim como das alturas em que esta deve ser aplicada, e de todos os cuidados a ter quando se lava as mãos para que não haja contaminação. Estas ações deveriam ainda ser frequentadas, não só pelos novos trabalhadores, mas também por todos os outros, de maneira a incentivá-los, de uma forma constante, à prática da higiene pessoal com a frequência necessária.

Este trabalho permitiu concluir que a utilização de um desinfetante à base de álcool, após a lavagem com um sabonete antimicrobiano, aumenta a eficiência de higienização das mãos, assim como permitiu concluir que a recolha da amostra apenas da palma da mão não traduz a carga microbiana que poderá pôr em risco os alimentos manipulados. A recolha não só da palma da mão mas também do contorno dos dedos e sob as unhas, fornece dados mais realistas do número de microrganismos presentes nas mãos, pois estas, sendo os locais onde os microrganismos se vão acumulando, são geralmente as zonas mais descuidadas durante a lavagem das mãos. Porém, estas conclusões foram mais evidentes para mesófilos aeróbios, pois apenas as diferenças entre as médias das taxas de remoção para a variável tipo de higienização, observadas para este grupo de microrganismos, se mostraram estatisticamente significativas para se poder inferir que a utilização de um desinfetante com álcool após lavagem das mãos com o sabonete é mais eficaz do que a lavagem apenas com o sabonete, mesmo sendo este antimicrobiano. Apesar da diferença das médias da variável área da mão não ser tão significativa como a anterior, a sua significância foi suficiente para se afirmar que quando se recolhe amostras da área total da mão (palma, contorno dos dedos e sob as unhas) as contagens são maiores. Perante esta situação, o método de recolha mais adequado para este estudo seria o método de lavagem com solução isotónica dentro de um saco de plástico. No entanto, este método implica elevados custos de processamento das amostras devido à necessidade de se efetuarem muitas diluições, pois as contagens obtidas vão ilustrar a contaminação de toda a mão, incluindo a zona dorsal.

Apesar de se concluir que a prática de uma higienização completa, utilizando os agentes definidos para este trabalho, foi mais eficaz do que uma higienização parcial, apenas em 2,50% das amostras em que se utilizou uma higienização completa se observaram taxas de redução de 100% para microrganismos mesófilos aeróbios. Estes resultados sugerem que os agentes testados poderão não ser os mais adequados para este grupo tão amplo e diversificado de microrganismos. Desta forma, deveriam ser feitos mais estudos em que fossem testados outros agentes de higienização para reduzir a contaminação por mesófilos aeróbios.

Este estudo mostra, assim, a importância da pesquisa microbiológica nesta área. É extremamente importante continuar à procura das melhores formas para reduzir a carga microbiana, não só nos alimentos, mas nas mãos dos manipuladores, nas superfícies e nos utensílios de trabalho. Desta forma será mais fácil assegurar a

qualidade e segurança alimentar, e também a saúde dos consumidores, pois de acordo com Lues e Tonder (2007), a experiência tem mostrado que basta um evento isolado de contaminação com um microrganismo patogénico para que se observem consequências drásticas.

O presente estudo permitiu assim, atingir os objetivos inicialmente estipulados. Otimizou-se um protocolo de higienização e selecionou-se o método de amostragem mais viável para este estudo, de forma a se obter os dados necessários para avaliar a eficiência de higienização das mãos. Foram ainda feitas pesquisas bibliográficas de forma a se poder propor critérios de apreciação da eficiência de higienização não só para a amostra alvo mas também para a manipulação de alimentos no geral.

É importante que as gerências dos hotéis tenham a noção do seu importante papel e se comprometam a garantir a aderência dos trabalhadores a práticas corretas de higienização. Devem ser criados programas de encorajamento, por exemplo através de compensações ou penalizações aos trabalhadores (Todd *et al.*, 2010, V. LXXIII Part 10), consoante eles seguem ou não as técnicas de higiene pessoal adequadas. Para que os manipuladores de alimentos saibam como pôr em prática tais técnicas é essencial que estas lhes sejam transmitidas. A gerência deve, para tal, formar os seus trabalhadores de forma a aumentar o seu conhecimento na área da segurança alimentar, na qual está incluída a higiene das mãos. Para além disso, deve ser feita uma monitorização contínua através da observação dos comportamentos dos trabalhadores para verificar se estes estão a pôr em prática os conhecimentos que lhes foram transmitidos no âmbito de aumentar a segurança dos alimentos e diminuir o risco do surgimento de doenças alimentares (Todd *et al.*, 2010, V. LXXIII Part 11).

O interesse na segurança da saúde pública deve ser a principal motivação, tanto dos manipuladores de alimentos como da gerência, à produção de alimentos seguros (Todd *et al.*, 2010, V. LXXIII Part 9).

## VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Adams MR, Moss MO.** Food microbiology. 3<sup>rd</sup> Edition, Chapter 3. Royal Society of Chemistry, 2008

**Almanza B.** Hand sanitizers no substitute for soap and water. Purdue News, 2000. Acedido a 19 de Dezembro, 2011, disponível em <http://www.purdue.edu/uns/html4ever/000211.Almanza.sanitizers.html>

**Almeida RC, Kuaye AY, Serrano AM, Almeida PF.** Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. Revista de Saúde Pública 1995, 29(4): 290-294

**Ancipa, Forvisão, IDEC, Fundacion Lavora e Sintesi.** Hygirest – Programa de Formação sobre higiene e segurança alimentar para restaurantes e estabelecimentos similares – Trabalhadores. Lisboa: ANCIPA – Associação Nacional de Comerciantes e Industriais de Produtos Alimentares, 2006

**Andrade NJ, Silva RM, Brabes KC.** Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. Ciência e Agrotecnologia 2003, 27(3): 590-596

**Ayçiçek H, Aydoğan H, Küçükkaraaslan A, Baysallar M, Ahmet Celal Başustaoğlu, A.** Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. Food Control 2004, 15: 253–259

**Batista P, Saraiva J.** Higiene pessoal na indústria alimentar. Forvisão – Consultoria em Formação integrada, Lda. 2003

**Batista P, Venâncio A.** Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. Forvisão – Consultoria em Formação integrada, Lda. 2003

**Bloomfield SF, Aiello AE, Cookson B, O’Boyle C, Larson E.** The effectiveness of hand hygiene procedures in reducing the risks of infections in home and community settings including handwashing and alcohol-based hand sanitizers. American Journal of Infection Control 2007, 30(10):27-64

**Boyce JM, Pittet D.** Guideline for hand hygiene in health-care settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee



and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Centers for Disease Control and Prevention 2002, 51(RR16): 1-44

**Codex Alimentarius.** Food Hygiene Basic Texts. 3ª Ed., 2003. Acedido a 26 de agosto, 2011, disponível em [http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/codex\\_alimentarius.pdf](http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/alimentos/codex_alimentarius.pdf)

**Coelho A, Milagres R, Martins J, Azeredo R, Santana A.** Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. *Ciência & Saúde Coletiva* 2010, 15: 1597-1606

**Cunha M.** Métodos de detecção de microrganismos indicadores. *Saúde & Ambiente em Revista* 2006, 1(1): 09-13

**Delaney LR, Gunderman RB.** Hand Hygiene. *Radiology* 2008, 246: 15-19

**Franco BDGM.** Microbiologia dos Alimentos. 2ª Edição – São Paulo: Editora Atheneu 2003

**Gomes CP.** Critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios – Nova legislação da União Europeia. *Segurança Alimentar* 2007, 2: 48-51

**Green LR, Radke V, Mason R, Bushnell L, Reimann DW, Mack JC, Motsinger MD, Stigger T, Selman CA.** Factors related to food worker hand hygiene practices. *Journal of Food Protection* 2007, 70(3): 661–666

**Greig JD, Todd, ECD, Bartleson CA, Michaels BS.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2007, 70(7): 1752–1761

**Hansen TB, Knøchel S.** Image analysis method for evaluation of specific and non-specific hand contamination. *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94: 483–494

**Harrison WA, Griffith CJ, Ayers T, Michaels B.** Bacterial transfer and cross-contamination potential associated with paper-towel dispensing. *American Journal of Infection Control* 2003, 31: 387-91

**Jumaa PA.** Hand Hygiene: simple and complex. *International Journal of Infectious Diseases* 2005, 9: 3-14

- Kampf G, Kramer A.** Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clinical Microbiology Reviews* 2004, 863–893
- Larson EL, Morton HE.** Alcohols [Chapter 11]. In: Block SS, (ed.): *Disinfection, Sterilization and Preservation*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger 1991, 642-54
- Leite CQF, Raddi MSG, Mendonça CP.** Bactérias entéricas nas mãos de manipuladores de alimentos da cidade de Araraquara – SP. *Alimentos e Nutrição*, São Paulo 1989, 1: 23-28
- Litz VM, Rodrigues LB, Santos LR, Pilotto F.** Antissepsia de mãos na indústria de carnes: avaliação da clorhexidina, triclosan e iodóforo na redução da contaminação microbiana em manipuladores. *Ata Scientiae Veterinariae* 2007, 35(3): 321-326
- Lues JFR, Tonder IV.** The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control*, 2007, 18: 326–332
- Machado JR, Marson JM, Oliveira AC, Silva PR, Terra AP.** Avaliação microbiológica das mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos da unidade de alimentação e nutrição de um hospital universitário. *Medicina-Ribeirão Preto* 2009, 42(4): 461-5
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J.** *Brock Biology of Microorganisms*. Ninth Edition. Chapter 19. Prentice hall 2000
- Mcginley KJ, Larson EL, Leyden JJ.** Composition and density of microflora in the subungual space of the hand. *Journal Of Clinical Microbiology* 1988, 26: 950-953
- Millezi AF, Tonial TM, Zanella JP, Moschen EE, Ávila CA, Kaiser VL, Hoffmeister S.** Avaliação e qualidade microbiológica das mãos de manipuladores e do agente sanificante na indústria de alimentos. *Revista Analytica* 2007, 28: 74-79
- Montville R, Chen Y, Schaffner DW.** Risk assessment of hand washing efficacy using literature and experimental data. *International Journal of Food Microbiology* 2002, 73: 305-313
- Munsch-Alatossava P, Rita H, Alatossava T.** A faster and more economical alternative to the standard plate count (SPC) method for microbiological analyses of

raw milks. Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology. A. Méndez-Vilas (ed), Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. Badajoz: Formatex 2007, 495-499

**Patrick DR, Findon G, Miller TE.** Residual moisture determines the level of touch contact associated bacterial transfer following handwashing. *Epidemiology and Infection* 1997, 119: 319-325

**Pérez-Rodríguez F, Valero A, Carrasco E, García RM, Zurera G.** Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in Food Science & Technology* 2008, 19: 131-144

**Pittet D, Boyce JM.** Hand hygiene and patient care: pursuing the Semmelweis legacy. *Lancet Infectious Diseases* 2001, April: 9–20, Review

**Raddi MSG, Leite CQF, Mendonça CP.** *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. *Revista de Saúde Pública, S. Paulo* 1988, 22(1): 36-40

**Regulamento (CE) N.º 2073/2005 da Comissão,** de 15.11.2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*, 22 Dez. 2005, L 338/1. Acedido a 26 de agosto, 2011, disponível em <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:PT:PDF>

**Richmond MJ.** Food safety: HACCP – What is it? Why did NASA invent it? *Artiport*, 2009. Acedido a 29 de agosto, 2011, disponível em <http://www.artipot.com/articles/304755/food-safety-haccp-what-is-it-why-did-nasa-invent-it.htm>

**Santos AAM.** Higienização das mãos no controle das infeções em serviços de saúde. *Revista de Administração em Saúde* 2002, 4(15): 10-14

**Saraiva MM.** Avaliação microbiológica do estado higiénico de mãos ou mãos com luvas. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2008

**Shojaei H, Shooshtaripoor J, Amiri M.** Efficacy of simple hand-washing in reduction of microbial hand contamination of Iranian food handlers. *Food Research International* 2006, 39: 525–529

**Sickbert-Bennet EE, Weber DJ, Gergen-Teague M, Sobsey MD, Samsa GP, Rutala WA.** Comparative efficacy of hand hygiene agents in the reduction of bacteria and viruses. *American Journal of Infection Control* 2005, 33(2): 67-77

**Simonne A.** Hand hygiene and hand sanitizers. Florida Coop. Exten. Serv., Univ. of Florida/IFAS, 2005. Acedido a 17 de janeiro, 2011, disponível em <http://edis.ifas.ufl/FY732>

**Siqueira RS.** Manual de microbiologia de alimentos. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ). Brasília, Embrapa - SPI, Rio de Janeiro, Embrapa - CTAA, 1995

**Snyder OP.** Hand washing for retail food operations – a review. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 1998, 18(3): 149-162

**Tanis EA.** Statistics: Descriptive statistics and probability. Harcourt Brace Jovovich College Outline Series, 1987

**Taylor JH, Brown KL, Toivonen J, Holah JT.** A microbiological evaluation of warm air and driers with respect to hand hygiene and the washroom environment. *Journal of Applied Microbiology* 2000, 89: 910-919

**Thatcher FS, Clark DS.** Microorganisms in Foods: their significance and methods of enumeration. University of Toronto Press, 2002, 74-79

**Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2007, 70(8): 1975–1993; 70(9): 2199-2217

**Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2008, 71(11): 2339-2373

**Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2009, 72(1): 202-219

**Todd ECD, Greig JD, Michaels BS, Bartleson CA, Smith D, Holah J.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(12): 2306-2320

**Todd ECD, Michaels BS, Holah J, Smith D, Greig JD, Bartleson CA.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(11): 2128-2140

**Todd ECD, Michaels BS, Smith D, Greig JD, Bartleson CA.** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(10): 1937-1955

**Valsechi OA.** *Microbiologia dos Alimentos*. Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconomia Rural. Araras, São Paulo 2006

**Wendt C.** Hand hygiene - comparison of international recommendations. *Journal of Hospital Infection* 2001, 48:23-28

**World Health Organization.** Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens - Interpretative summary. Microbiological Risk Assessment Series N° 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations 2002. Acedido a 30 de agosto, 2011, disponível em [http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/salm\\_summary.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/salm_summary.pdf)

## VII. ANEXOS

Anexo 1 - Ficha de registo do estado das mãos dos manipuladores.

<b>Nº da Amostra</b>	<b>Nome</b>	<b>Tipo de recolha</b>	<b>Local/Data</b>	<b>Observações do estado das mãos</b>
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		
		A1		
		B1		
		A2		
		B2		