

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Ciências Biológicas - Bacharelado



Trabalho Acadêmico

**Microbiota fúngica em utensílios de
madeira oriundos de unidades de
alimentação do município de Pelotas-RS**

Júlia de Souza Silveira

Pelotas, 2014

Júlia de Souza Silveira

**MICROBIOTA FÚNGICA EM UTENSÍLIOS DE MADEIRA
ORIUNDOS DE UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO DO MUNICÍPIO DE
PELOTAS-RS**

Trabalho acadêmico apresentado ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dr^a Daniela Isabel Brayer Pereira

Co-Orientador: Prof. Dr Eduardo Bernardi

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia – UFPel

S586m Silveira, Júlia de Souza

Microbiota fúngica em utensílios de madeira oriundos de unidades de alimentação do município de Pelotas-RS / Júlia de Souza Silveira. – 34f. – Monografia (Conclusão de curso). Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2014. – Orientador Daniela Isabel Brayer Pereira : co-orientador Eduardo Bernardi.

1.Biologia. 2.Anemófilos. 3.Alimentos. 4.Fungos.
5.Higienização. 6.Infecções. 7.Imunodeprimidos.
8.Imunosuprimidos. I.Pereira, Daniela Isabel Brayer.
II.Bernardi, Eduardo. III.Título.

Banca Examinadora:

Profª Drª Daniela Isabel Brayer Pereira

Profª Drª Gladis Aver Ribeiro

MSc. Anelise Oliveira da Silva Fonseca

MSc. Fernando de Souza Maia Filho (Suplente)

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por me dar a família maravilhosa e incentivadora que tenho.

Aos meus pais e ao meu irmão por todo apoio e suporte que tive deles para que pudesse seguir em frente e pelo incentivo que sempre me deram para estudar e realizar o seu grande sonho de ver sua filha formada e trabalhando com o que ama, fazendo o possível e o impossível para que isso acontecesse.

Ao meu esposo Diego pela paciência com a minhas crises de ansiedade e todo o meu estresse ao longo da graduação, pelas muitas vezes que ele teve que ficar sozinho (mesmo vindo de longe) e que abrimos mão de outros lazeres porque eu estava estudando ou fazendo trabalhos.

A minha brilhante e querida orientadora professora Daniela por me abrir as portas do seu laboratório mesmo sem experiência, pela paciência para me ensinar tudo desde o básico, por me permitir colocar em prática as minhas idéias de trabalhos mesmo não sendo exatamente na sua linha de pesquisa, pela confiança durante esses quatro anos de trabalho e pelo apoio que sempre me concedeu.

Ao meu querido co-orientador professor Eduardo pela amizade e pelo apoio que sempre me deu.

A equipe da vigilância sanitária principalmente a gerente da equipe Maria Angélica e ao chefe da fiscalização Cláudio pela autorização e apoio ao meu trabalho. Também aos fiscais Paulo Dutra, Claudia Cunha, Sergio Casa Nova e Renato Borges por me darem todo o suporte e acompanhamento nas coletas.

Aos meus colegas de laboratório Anelise, Beatriz, Lili, Cristina, Mara, Fernando, Josiara e Gracialda pelo carinho e apoio.

A querida professora Michele Sabocinski por me ajudar nas dificuldades que eu tinha com a língua inglesa.

Ao professor e colega de trabalho Maurivam Leão por me fazer descobrir essa paixão que eu sempre tive pela biologia e nunca havia percebido.

A todas as pessoas que participaram direto ou indiretamente neste trabalho e não citei nos agradecimentos peço minhas sinceras desculpas e sintam-se agradecidos.

Resumo

SILVEIRA, Júlia de Souza. **Microbiota fúngica em utensílios de madeira oriundos de unidades de alimentação do município de Pelotas-RS**. 2014. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso- Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A principal característica de um alimento seguro é a ausência total de micro-organismos patogênicos e um número reduzido de microbiota deteriorante. No entanto, os alimentos podem ser contaminados por uma grande diversidade de fungos de origem ambiental, os quais em condições favoráveis crescem e se multiplicam no substrato causando sua deterioração. Os estabelecimentos de produção e comercialização de alimentos, nos quais estão incluídos os restaurantes de produção industrial, constituem uma das fontes de ocorrência de DTA's. Com isso, a principal causa da alteração de alimentos processados e conseqüentemente da incidência dessas doenças têm sido a utilização de utensílios e outros instrumentos com higienização deficiente ocorrendo isoladamente ou aliada a outros fatores. Segundo a ANVISA, os mesmos devem estar livres de substâncias nocivas à saúde e resistir às repetidas limpezas de procedência sem sofrer desgaste nem absorver umidade. Dessa forma, materiais como madeira e outros que não possam sofrer uma boa e completa higienização, estão em desacordo com essas normas e não devem ser utilizados. O objetivo do presente estudo foi isolar e identificar os fungos presentes em utensílios de madeira, recolhidos conjuntamente com a vigilância sanitária de Pelotas, em 25 unidades de alimentação e nutrição e avaliar a incidência de fungos anemófilos nesses estabelecimentos. Para a avaliação dos utensílios utilizou-se a técnica do *swab* e para os fungos anemófilos foi adotada a técnica de sedimentação simples. Os gêneros mais frequentes entre as amostras de utensílios foram *Penicillium*, *Aspergillus* e *Geotricum*. Já no ar houve maior frequência dos gêneros *Aspergillus* e *Alternaria*. Os resultados evidenciaram que 90% das amostras de utensílios apresentaram contagem insatisfatória de acordo com o padrão estabelecido. Também foi possível observar que alguns gêneros foram isolados de utensílios e ar simultaneamente sugerindo assim, uma possível fonte de contaminação cruzada. Dessa forma, é possível inferir que fungos filamentosos e leveduriformes estão presentes em utensílios e no ar, podendo representar um risco à saúde dos consumidores e funcionários que frequentam esses estabelecimentos.

Palavras-chave: Anemófilos. Alimentos. Fungos. Higienização. Infecções. Imunodeprimidos. Imunosuprimidos.

Abstract

Silveira, Julia de Souza. **Fungal microbiota in wooden utensils (Microbiota fúngica em utensílios de madeira) from power supply units of the city of Pelotas - RS.** 2014. 34f. Term Paper in Biological Sciences. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The main feature of safe food is the total absence of pathogenic micro-organisms and a few deteriorating microbiota. However the food can be contaminated by a wide diversity of fungi from environmental origin, which under favorable conditions grow and multiply in substrate which causes its damage. Establishments producing and marketing of foods, which are included in the restaurants of industrial production are source for occurrence of DTA's. So, the main cause of the change of processed foods and consequently the incidence of these diseases has been the use of tools and other instruments with poor hygiene habits. According to ANVISA, these utensils should be free from substances harmful to health and withstand repeated cleanings without provenance wear out or absorb moisture. Thus, materials such as wood and others which may not have a good and thorough cleaning, are not under these laws and should not be used. The aim of this study was to isolate and identify the fungi found in wood utensils, collected together with the sanitary supervision of Pelotas, 25 units of food and nutrition to evaluate the incidence of airborne fungi in these establishments. For evaluation of the utensils we used the Swab technique and adopted the technique of simple sedimentation for airborne fungi. The most common genera between samples utensils were *Penicillium*, *Aspergillus* e *Geotricum*. In the air, there was a higher frequency of *Aspergillus* and *Alternaria*. The results showed that 90% of the samples showed unsatisfactory score according to the law. It was also noted that some genera were isolated from utensils and air simultaneously thus suggesting a possible source of cross-contamination. Thus, we can infer that filamentous fungi and yeast are in vessels of wood and in the air, and may pose a health risk to consumers and employees who attend such establishments.

Keywords: Airborne. Fungi. Food. Infections. Sanitation. Immunosuppressed. Immunocompromised.

Lista de Tabelas

- Tabela 1- Relação de gêneros fúngicos isolados de colheres coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS e a média total por amostra avaliada. 24
- Tabela 2- Relação de gêneros fúngicos isolados de tábuas de corte coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS e a média total por amostra avaliada. 23
- Tabela 3- Relação de gêneros fúngicos isolados de facas coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS e a média total por amostra avaliada. 26
- Tabela 4- Relação dos gêneros de fungos mais prevalentes em cada utensílio com suas respectivas médias de UFC's, presença de fungos no ar e o tipo de ambiente.... 26

Lista de Abreviaturas

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA- American Public Health Association

DTA- Doença Transmitida por Alimentos

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária

FDA- Food and Drug Administration

OMS- Organização Mundial de Saúde

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

UFPEL- Universidade Federal de Pelotas

Sumário

1	Introdução	12
2	Revisão de literatura.....	15
2.1	Fungos na alimentação	15
2.2	Fungos anemófilos	17
3	Metodologia.....	20
4	Resultados	223
4.1	Avaliação dos utensílios	223
4.2	Avaliação dos fungos anemófilos	25
5	Discussão.....	27
6	Conclusão	30
	Referências	333
	Anexos.....	34

1 Introdução

Para o consumidor a qualidade dos alimentos, na maioria das vezes, se resume a um conjunto de características como aroma, sabor, aparência, embalagem, preço e disponibilidade. Todavia, a principal característica de um alimento seguro é a ausência total de micro-organismos patogênicos capazes de causar intoxicação alimentar e um número reduzido de microbiota deteriorante (PINHEIRO; WADA; PEREIRA, 2010).

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são enfermidades provocadas pela ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos patogênicos (BRASIL, 2013). Essas doenças podem se apresentar na forma de infecções causadas pelo micro-organismo presente no alimento ingerido, na forma de intoxicações, em que toxinas produzidas são ingeridas ou ainda na forma de toxinfecções, na qual o patógeno está presente liberando toxinas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Para Silva (2008) são vários os fatores que propiciam o aparecimento de doenças de origem alimentar, dentre eles destaca-se o aumento da população, a maior exposição de pessoas fragilizadas, a aceleração no processo de urbanização e a necessidade de uma demanda maior de alimentos que passam a ser produzidos em grande escala. Além disso, existe uma deficiência na fiscalização do governo perante a qualidade dos produtos alimentícios.

Segundo Andrade, Silva e Brabes (2003), o número de empresas no setor de refeições coletivas tem aumentado 20% ao ano, o que contribui para a elevação do número dessas toxinfecções. Nesse contexto, os estabelecimentos de produção e comercialização de alimentos, nos quais estão incluídos os restaurantes de produção industrial, são uma fonte para ocorrência de DTA's, sendo bactérias,

fungos, vírus e parasitas os principais agentes etiológicos encontrados nesses surtos (BRASIL, 2014; BUZBY et al., 1996).

A utilização de utensílios e outros instrumentos com higienização deficiente, ocorrendo isoladamente ou aliada a outros fatores, são os principais veículos de transmissão e contaminação dos alimentos com agentes microbianos patogênicos (KOCHANOSKI et al., 2009 apud ANDRADE E MACEDO, 1996).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2004), o material que compõe os utensílios e equipamentos, tais como tabuas de corte, cortadores de legumes, cortadores de frios, pratos, talheres, bandejas, tabuleiros, placas de altileno, amaciadores de carne, entre outros, não deve transmitir sabores e odores, devem estar livres de substâncias nocivas à saúde e resistir às repetidas limpezas de procedência sem sofrer desgaste nem absorver umidade. Dessa forma, madeira e outros materiais que não possam sofrer uma boa e completa higienização, estão em desacordo com essas normas, não podem ser utilizados e devem ser continuamente avaliados quanto a sua microbiota para controle da eficácia do processo de higienização utilizado (KOCHANOSKI et al., 2009 apud ANDRADE; MACEDO, 1996; BRASIL, 2013).

Segundo Silva Júnior (1995) a madeira é um material de difícil higienização, podendo ficar marcada, riscada e trincada durante sua utilização implicando no aumento da capacidade de absorver sujeira e micro-organismos prejudiciais à saúde e causadores de DTA's. Segundo Aguiar et al. (2006), a melhor recomendação para cortes seriam as placas de polietileno, desde que sejam feitas trocas periódicas das mesmas, uma vez que essas também podem sofrer ranhuras e acumular micro-organismos com o tempo de uso.

A ANVISA determina que os ambientes de processamento de alimentos devam ser ventilados e a corrente de ar não pode ser diretamente voltada para o alimento, evitando dessa forma a contaminação por fungos, gases, fumaça, partículas suspensas, entre outros que possam comprometer a integridade sanitária dos alimentos (BRASIL, 2013).

A cidade de Pelotas, RS, dispõe de um clima úmido apresentando em média 85,8% de umidade relativa do ar, segundo dados da Estação Climatológica da Estação Climatológica da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA, 2012). Nesse município, Bernardi e Nascimento (2005) isolaram 18

gêneros fúngicos do ar na praia do Laranjal, comprovando a presença desses microorganismos anemófilos.

Segundo relato de fiscais da equipe da vigilância sanitária há negligência por parte dos proprietários de estabelecimentos de produção de alimentos do município de Pelotas quanto às normas da ANVISA. Mesmo estando cientes da normatização, esses profissionais ainda insistem na utilização de utensílios de madeira e em péssimas condições de higiene, além de violar outras normas. Sendo assim, é importante o monitoramento microbiológico nessas unidades de alimentação.

Considerando que parte da contaminação de utensílios de madeira em unidades de alimentação pode ser originada do ar e ser ocasionada por fungos anemófilos, é importante estudar e avaliar a contaminação por esses tipos de fungos nos equipamentos de madeira, uma vez que esses estão presentes no ambiente e constituem uma possível fonte de contaminação para os alimentos, já que podem ser depositados nas ranhuras de utensílios e superfícies. Os objetivos do presente estudo foram isolar e identificar os fungos presentes em utensílios de madeira, recolhidos conjuntamente com a vigilância sanitária de Pelotas em unidades de alimentação e nutrição e verificar a presença de fungos anemófilos nesses ambientes.

2 Revisão de literatura

2.1 Fungos na alimentação

O aumento da comercialização de alimentos nas últimas décadas tem sido relacionado com o elevado número de doenças alimentares no mundo moderno. Isso ocorre porque os alimentos possuem uma série de características que propiciam um micro-ecossistema favorável para o desenvolvimento de micro-organismos, tais como: temperatura, atividade de água e pH (MCMEEKIN et al., 1997).

Segundo Silva Júnior (1995), de 159 surtos de DTA's estudados em Curitiba entre os anos de 1985 e 1988, 9,8% dos casos foram ocasionados por higiene deficiente de equipamentos. Similarmente, Freitas (1995), aponta a deficiência na higienização dos ambientes e utensílios como a causa de 16% dos surtos de intoxicação alimentar no país. No Estado de São Paulo, em um estudo realizado nos anos de 1996 e 1999, verificou-se que os índices de surtos provocados por esse motivo foram de 4,9% e 12,12%, respectivamente (SILVA JÚNIOR, 1995). Já em 2006 a Organização Mundial da Saúde (OMS) constatou que 60% dos casos de intoxicação alimentar foram decorrentes de técnicas inadequadas de manipulação, processamento e contaminação dos alimentos (ROSSI, 2006).

A importância dos fungos como causadores de DTA's destaca-se pela produção de micotoxinas. Estas substâncias são oriundas do metabolismo secundário dos fungos quando se desenvolvem em alimentos, principalmente grãos. Quando ingeridas pelo homem acarretam risco à saúde, uma vez que são substâncias com propriedades carcinogênicas, nefrotóxicas, teratogênicas e imunotóxicas. Dentre essas micotoxinas, destacam-se as aflatoxinas, produzidas por fungos do gênero *Aspergillus* spp., ocratoxina, produzida por espécies de *Penicillium* e

Aspergillus e fumonisinas, secretadas por algumas espécies do gênero *Fusarium*. (BARRETO; SILVA, 2006; ENGORMIX, 2013; QUALFOOD, 2012).

Os fungos presentes na alimentação podem causar infecções em detrimento de uma competição com a microbiota do organismo (colonização). Para que isso ocorra, existem algumas condições indispensáveis como: carga microbiana suficiente, meio de cultura favorável com nutrientes disponíveis, capacidade de adesão em mucosas pelo micro-organismo, redução da microbiota competitiva e incapacidade de reação ou fuga dos mecanismos de defesa do hospedeiro (ZAINA et al.,2004). Dessa forma, pacientes imunodeprimidos (portadores de doenças que atacam o sistema imune) ou imunossuprimidos (em tratamento que comprometa sua imunidade) são os grupos de maior risco para esse tipo de infecção. Segundo Silva (2010), procedimentos terapêuticos utilizados em pacientes com doenças malignas e principalmente o transplante de células hematopoiéticas contribuem fortemente para o aumento do número de indivíduos imunocomprometidos, os quais são extremamente suscetíveis a infecções por organismos de baixa virulência como fungos oportunistas dos gêneros *Candida* spp. e *Aspergillus* spp..

Para a carga de bolores e leveduras permitida nos alimentos a ANVISA (2013) estipulou um padrão com limites de cargas microbianas aceitáveis e não aceitáveis para pacientes com deficiências imunológicas, estando esses valores no limite de 5×10 Unidades Formadoras de Colônias UFC/cm².

Tendo em vista a prevenção de doenças transmitidas por alimentos, a ANVISA estipulou boas práticas em locais de comercialização de alimentos atendendo a quesitos higiênico-sanitários. São eles: a capacitação de profissionais de manipulação; controle de vetores de doenças e pragas urbanas; higienização e manutenção de limpeza das instalações; controle da qualidade da água de abastecimento; fiscalização das condições de higiene e saúde dos manipuladores e a destinação correta dos resíduos (BRASIL, 2013).

Diante dos fatos apresentados, pesquisas sobre a microbiota de utensílios de cozinha de unidades de alimentação e estabelecimentos comerciais têm sido feitas até o presente momento. Em unidades de alimentação e nutrição, Andrade, Silva e Brabes (2003) realizaram 17 visitas técnicas a 12 ambientes de produção de alimentos. Dentre essas foram avaliadas a microbiota do ar dos ambientes de processamento, das mãos de manipuladores e das superfícies de 36 equipamentos

e utensílios. Como resultado 22,9% dos utensílios apresentava contaminação por micro-organismos.

Um estudo sobre as condições microbiológicas de superfície e manipuladores do ramo alimentar foi realizado por Pereira et al. (2008). Nesse trabalho foram avaliados restaurantes localizados na cidade de Bragança (Portugal), onde foi feito o isolamento apenas de bactérias em tábuas de corte, mãos de manipuladores e superfícies de bancadas e equipamentos, evidenciando que 9,1% das análises das mãos de manipuladores apresentavam contaminação indicativa de condições higiênicas inadequadas.

Pinheiro, Wada e Pereira (2010) ao avaliaram a contaminação em tábuas de corte utilizadas no preparo de alimentos de uma Instituição de Ensino Superior em São Carlos-SP, evidenciaram que 90% das tábuas estavam contaminadas por micro-organismos, dentre os quais 80% eram bolores e leveduras.

Na cidade de Pelotas/RS, Blume e Ribeiro (2006) avaliaram a qualidade sanitária de talheres e pratos utilizados no restaurante-escola da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), entretanto foram observados apenas quanto à presença de bactérias. O estudo permitiu evidenciar um alto índice de contaminação, com os pratos apresentando contaminação acima do índice estabelecido em 90% das amostras, enquanto que garfos e facas apresentaram 60% e 30%, respectivamente.

Ainda no município de Pelotas/RS, o trabalho realizado por Massaut et al. (2008) avaliou a validação dos procedimentos de higienização adotados por uma unidade de alimentação e nutrição. Os autores constataram que 56,6% das amostras encontravam-se fora do padrão estabelecido e 40% delas apresentavam níveis acima do recomendado para contagens de bolores e leveduras. .

2.2 Fungos anemófilos

Os fungos são organismos eucariontes, desprovidos de clorofila, podem ser uni ou pluricelulares, muitos são tipicamente filamentosos em pelo menos algum estágio de vida, em sua maioria sapróbios e, em alguns casos, parasitas ou simbiontes (ALEXOPOULOS; MIMS; BLACKWELL,1996). Sua parede celular é composta por quitina , assim como outros carboidratos complexos (PUTZKE; PUTZKE, 2004). O habitat desses micro-organismos é muito diversificado, pois

podem ser encontrados colonizando outros organismos, em detritos, água, no solo e principalmente no ar, sendo esse seu principal mecanismo de dispersão (BERNARDI; NASCIMENTO, 2005). Os fungos que são dispersos pelo ar são denominados fungos anemófilos (CASTELO BRANCO, 2010). Segundo Menezes et al. (2006), graças a esses fatores de dispersão, a microbiota fúngica pode ser semelhante ou diferente em cada cidade ou região.

Os fungos possuem uma grande capacidade adaptativa, pois utilizam uma série de substratos diferentes para se desenvolver, suportam condições que outros micro-organismos não suportam, assim como crescimento em condições reduzidas de água, pH baixo, ampla faixa de temperatura (0°C a 40°C), além de apresentar versatilidade de substrato como carbono, nitrogênio e capacidade de esporulação em condições adversas (SILVA, 2008).

Em um estudo comparativo entre ambientes internos e externos de Taiwan, Li e Kuo (1992) destacaram dados bastante relevantes para o estudo de fungos anemófilos. Esses autores realizaram coletas de fungos em seis residências comparando ambientes internos e externos das mesmas. O experimento lhes permitiu observar uma alta taxa de bioaerossóis nos ambientes internos, as quais em alguns casos foram mais prevalentes que nos ambientes externos. Além disso, os pesquisadores observaram que as taxas de temperatura da região (21-29°C) e a umidade relativa do ar (70-85%) contribuíram para o número elevado de fungos no ar.

Andrade, Silva e Brabes (2003) avaliaram 63 diferentes ambientes de processamento de alimentos em 12 unidades de alimentação e nutrição. Apenas 32,8% dos ambientes estavam em condições higiênicas adequadas em relação à qualidade do ar, número de micro-organismos mesófilos aeróbios e quanto à presença de fungos e leveduras.

Rajasekar e Balasubramanian (2011) em Singapura avaliaram a presença de esporos fúngicos viáveis em ambientes externos e internos em praças de alimentação. Nos ambientes internos constataram a presença de 50,5% de bactérias e 49,5% de fungos. Em contraste, nos ambientes externos foram isoladas 20,6% de bactérias e 79,4% de fungos.

Na cidade de Pelotas/RS apenas Bernardi e Nascimento (2005) realizaram um levantamento de fungos anemófilos em ambientes externos. Nesse estudo foram isolados do ar 18 gêneros fúngicos sendo eles: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*,

Curvularia e *Aspergillus*, em maior frequência, e em menor frequência: *Tysanophora*, *Pestalotiopsis*, *Phialomyces*, *Rhizopus* e *Arthrinium*. No entanto, estudos envolvendo áreas de produção de alimentos são escassos e devido a sua importância sanitária demandam a realização de pesquisas que avaliem o índice de contaminação por fungos.

3 Metodologia

Foram realizadas vistorias em 25 unidades de alimentação e nutrição do município de Pelotas, RS. As vistorias abrangeram seis padarias, dois açougues, três cozinhas de casas geriátricas, cinco lanchonetes e nove restaurantes nos quais os utensílios de madeira foram devidamente recolhidos em uma operação conjunta com a vigilância sanitária em locais com solicitação de alvará ou renovação do mesmo. Os materiais recolhidos para análise foram oito colheres de pau, quatro tábuas de corte e nove facas com cabo de madeira, utilizados no preparo de alimentos, sendo coletado um utensílio por estabelecimento.

Os ambientes foram avaliados em uma ficha técnica (Anexo A) contendo as informações do número da amostra, data, temperatura, presença ou ausência de ar-condicionado e pontos de coleta do ar. Além disso, os ambientes foram classificados como: limpos, intermediários, sujo e muito sujo de acordo com oito critérios principais contidos na normativa da ANVISA RDC nº216 de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2010). Para a classificação foi estabelecido o mínimo de dois critérios em desacordo com a normativa para os ambientes limpos, três a quatro para os intermediários, cinco a seis para os sujos e sete a oito para os ambientes muito sujos. Os critérios da normativa adotados no presente estudo foram:

- As instalações físicas como piso, parede e teto devem possuir revestimento liso, impermeável e lavável. Devem ser mantidos íntegros, conservados, livres de rachaduras, trincas, goteiras, vazamentos, infiltrações, bolores, descascamentos, dentre outros e não devem transmitir contaminantes aos alimentos;
- As caixas de gordura e de esgoto devem possuir dimensão compatível ao volume de resíduos, devendo estar localizadas fora da área de preparação e armazenamento de alimentos e apresentar adequado estado de conservação e funcionamento;

- As áreas internas e externas do estabelecimento devem estar livres de objetos em desuso ou estranhos ao ambiente, não sendo permitida a presença de animais;
- As instalações elétricas devem estar embutidas ou protegidas em tubulações externas e íntegras de tal forma a permitir a higienização dos ambientes;
- As instalações, os equipamentos, os móveis e os utensílios devem ser mantidos em condições higiênico-sanitárias apropriadas. As operações de higienização devem ser realizadas por funcionários comprovadamente capacitados e com frequência que garanta a manutenção dessas condições e minimize o risco de contaminação do alimento;
- A área de preparação do alimento deve ser higienizada quantas vezes forem necessárias e imediatamente após o término do trabalho.
- A ventilação deve garantir a renovação do ar e a manutenção do ambiente livre de fungos, gases, fumaça, pós, partículas em suspensão, condensação de vapores dentre outros que possam comprometer a qualidade higiênico-sanitária do alimento. O fluxo de ar não deve incidir diretamente sobre os alimentos.
- Os equipamentos, móveis e utensílios que entram em contato com alimentos devem ser de materiais que não transmitam substâncias tóxicas, odores, nem sabores aos mesmos, conforme estabelecido em legislação específica. Devem ser mantidos em adequado estado de conservação e ser resistentes à corrosão e a repetidas operações de limpeza e desinfecção.

A coleta de fungos anemófilos foi realizada somente nos ambientes que possuíam utensílios de madeira. A mesma procedeu-se através da metodologia de sedimentação simples adotada por Bernardi e Nascimento (2005) consistindo na exposição em duplicata de placas de Petri contendo o meio de cultura Potato Dextrose Agar (Acumedia®) na altura de 1m do solo durante o tempo de 10min, em dois pontos, priorizando a proximidade de aberturas. Após esse procedimento as amostras foram levadas para o laboratório onde foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C por um período de cinco dias, até desenvolverem as UFC as quais foram identificadas quanto ao gênero através de sua macromorfologia e micromorfologia seguindo a literatura de Lacaz (1998).

Já os utensílios de madeira foram coletados e acondicionados em sacos de coleta estéreis, lacrados e encaminhados ao Laboratório de Micologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia da UFPel,

procedendo-se a análise juntamente com os dados do ambiente de coleta os quais foram observados e prescritos numa planilha de coleta. Para a análise dos utensílios utilizou-se a técnica do *swab* recomendada pela American Public Health Association (APHA ,1992), que consiste em friccionar um *swab* esterilizado e umedecido em solução diluente de água peptona 0,1% estéril, por três vezes, formando um ângulo de 30° com a superfície a ser avaliada num sentido de vai e vem, com o uso de um molde esterilizado que delimita a área amostrada de 3x3cm. Em seguida o *swab* foi transferido para um tubo contendo 9mL de solução de diluição, realizando-se diluições seriadas de 10^1 a 10^2 . Alíquotas de 0,1mL foram semeadas em duplicatas de placas contendo agar batata acrescido de cloranfenicol 0,1% utilizando-se a técnica *Spread-Plate* (espalhamento na placa), ficando incubadas durante cinco dias a 25°C. Para a contagem de UFC/cm² foram consideradas as placas que apresentavam contagens entre 30 e 300 UFC conforme as normas de Food and Drug Administration (FDA, 2013). Para o cálculo do número de UFC/cm², como as amostras foram semeadas em duplicata, foi considerada a média aritmética obtida da contagem de ambas as placas. O número de colônias foi multiplicado pelo inverso da diluição utilizada. Posteriormente, o número encontrado foi dividido pela área de 9 cm² e expressa em unidades formadoras de colônia por cm² (UFC/cm²) conforme a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/cm}^2 = \frac{\text{média do nº colônias} \times 1/\text{dil} \times 10}{9}$$

9

As colônias filamentosas foram identificadas até nível de gênero através de sua macromorfologia e micromorfologia, sendo feito microcultivo quando necessário. Já as colônias leveduriformes foram repicadas por esgotamento e identificadas pelo sistema Vitek. A contaminação dos utensílios foi interpretada de acordo com os critérios de Silva Júnior (2005) que classifica as amostras com contagens menores ou iguais a $5 \times 10 \text{ UFC/cm}^2$ como satisfatórias e acima desse valor como insatisfatórias.

4 Resultados

Dentre os 25 ambientes vistoriados, 21 apresentaram utensílios de madeira em uso (84%). A temperatura não oscilou apresentando a mínima em torno de 15°C e a máxima em torno de 25°C. Os locais visitados não possuíam equipamentos de refrigeração e/ou calefação.

4.1 Avaliação dos utensílios

Dos utensílios coletados, em 90% (19/21) houve o crescimento de fungos filamentosos (tab. 1, 2 e 3), com exceção de duas amostras de colheres que não se enquadraram dentro dos valores limites estabelecidas (entre 30 e 300UFC/placa) para contagem. Foram identificados 10 gêneros de fungos filamentosos, os quais foram: *Penicillium* 48% (10/21), *Aspergillus* 29% (6/21), *Geotricum* 29% (6/21), *Cladosporium* 24% (5/21), *Trichoderma* 24% (5/21), *Fusarium* 19% (4/21), *Paecilomyces* 14% (3/21) *Rhizopus* 9% (2/21), *Acremonium* 5% (1/21) e *Nigrospora* 5% (1/21).

O crescimento de fungos leveduriformes ocorreu em 14 utensílios, sendo identificados como: *Stephanoascus ciferrii* 5% (1/21), *Cryptococcus laurentii* 5% (1/21), e *Candida famata* 9% (2/21). Em 11 isolados não foi possível a identificação.

A maior contagem de fungos encontrada nos utensílios foi de $3,3 \times 10^4$ UFC/cm², sendo esta contaminação observada em 83% (5/6) das colheres, 25% (1/4) das tábuas de corte e 11,11% (1/9) das facas.

Tabela 1- Relação de gêneros fúngicos isolados de colheres coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS, a contagem de colônias para cada gênero e a contagem total por amostra avaliada.

Número da amostra de colheres	Gêneros isolados	UFC/ Gênero	Contagem total por amostra (UFC)
1	<i>Aspergillus</i> spp.	300	$3,3 \times 10^4$
2	<i>Rhizopus</i> spp.	14	$3,3 \times 10^4$
	<i>Aspergillus</i> spp.	8	
	Leveduras	300	
3	<i>Trichoderma</i> spp.	6	$3,3 \times 10^4$
	<i>Aspergillus</i> spp.	300	
4	<i>Penicillium</i> spp.	300	$3,3 \times 10^4$
	<i>Cladosporium</i> spp.	1	
5	<i>Penicillium</i> spp.	13,5	$3,3 \times 10^4$
	<i>Cladosporium</i> spp.	3,5	
	<i>Geotricum</i> spp.	2	
	Leveduras	300	
6	<i>Trichoderma</i> spp.	7	$1,6 \times 10^4$
	<i>Penicillium</i> spp.	7	
	<i>Cryptococcus laurentii</i>	130,5	

Tabela 2- Relação de gêneros fúngicos isolados de tábuas de corte coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS, a contagem de colônias para cada gênero e a contagem total por amostra avaliada.

Número da amostra de tábuas de corte	Gêneros isolados	UFC/Gênero	Contagem total por amostra (UFC)
1	<i>Fusarium</i> spp.	3	2x10 ⁴
	<i>Penicillium</i> spp.	1	
	<i>Paecilomyces</i> spp.	47	
	<i>Candida famata</i>	83	
	<i>Stephanoascus ciferrii</i>	45	
2	<i>Fusarium</i> spp.	4	3,1x10 ⁴
	<i>Paecilomyces</i> spp.	3	
	<i>Geotricum</i> spp.	2	
	Leveduras	270	
3	<i>Cladosporium</i> spp.	6	1,1x10 ⁴
	<i>Trichoderma</i> spp.	4	
	<i>Penicillium</i> spp.	3	
	<i>Fusarium</i> spp.	5	
	Leveduras	83	
4	<i>Cladosporium</i> spp.	1,5	1,7x10 ⁴
	<i>Penicillium</i> spp.	2	
	<i>Aspergillus</i> spp.	3	
	Leveduras	146,5	

Tabela 3- Relação de gêneros fúngicos isolados de facas coletadas em estabelecimentos de produção de alimentos no município de Pelotas/RS, a contagem de colônias para cada gênero e a contagem total por amostra avaliada.

Número da amostra de facas	Gêneros isolados	UFC/ Gênero	Contagem total por amostra (UFC)
1	<i>Penicillium</i> spp.	2	3,5x10 ³
	<i>Trichoderma</i> spp.	2	
	<i>Aspergillus</i> spp.	24,5	
	Leveduras	3	
2	<i>Penicillium</i> spp.	1	1,2x10 ⁴
	<i>Aspergillus</i> spp.	1	
	<i>Geotricum</i> spp.	1	
	<i>Nigrospora</i> spp.	1	
	<i>Candida famata</i>	116	
3	<i>Aspergillus</i> spp.	3,5	1,5x10 ⁴
	<i>Paecilomyces</i> spp.	107	
	Leveduras	17	
4	<i>Rhizopus</i> spp.	1	7,3x10 ³
	<i>Geotricum</i> spp.	1	
	<i>Cladosporium</i> spp.	1	
	Leveduras	63	
5	<i>Penicillium</i> spp.	51,5	5,710 ³
6	<i>Fusarium</i> spp.	4	3,3x10 ⁴
	<i>Acremonium</i> spp.	5	
	Leveduras	295	
7	<i>Aspergillus</i> spp.	1	6,6x10 ³
	<i>Geotricum</i> spp.	3,5	
	<i>Trichoderma</i> spp.	6	
	Leveduras	48,5	
8	<i>Penicillium</i> spp.	16,5	3,6x10 ³
	<i>Trichoderma</i> spp.	6	
	<i>Fusarium</i> spp.	1	
	Leveduras	9	
9	<i>Penicillium</i> spp.	91	1,2x10 ⁴
	<i>Cladosporium</i> spp.	1	
	Leveduras	11	

Os dois utensílios que não demonstraram contaminação apresentavam-se completamente secos e aparentemente sem uso recente, comprovando que os fungos necessitam de condições de umidade e nutrientes para se estabelecer.

O gênero mais prevalente nos utensílios coletados em ambientes limpos foi *Paecilomyces* ($6,1 \times 10^3$ UFC/cm²), no entanto, esse fungo não foi isolado do ar nesse tipo de ambiente. Nos ambientes intermediários e sujos o gênero mais prevalente em ambos foi *Penicillium* ($9,2 \times 10^3$ e $2,5 \times 10^3$ UFC/cm², respectivamente) tendo sido isolado também do ar. Já nos ambientes muito sujos prevaleceu o gênero *Aspergillus* ($2,8 \times 10^2$ UFC/cm²) o qual também foi isolado do ar.

Os resultados das análises dos utensílios demonstraram que 90% das amostras analisadas apresentaram contagem insatisfatória de filamentosos e leveduras, segundo o método de avaliação adotado. Dentre os utensílios analisados, em 75% (6/8) das colheres, 100% (4/4) das tábuas de corte e 100% (9/9) das facas apresentaram contagem acima dos limites estabelecidos.

4.2 Avaliação dos fungos anemófilos

Fungos anemófilos foram encontrados em todos os ambientes de preparo de alimentos e totalizaram oito gêneros, os quais foram: *Aspergillus* (57%, 12/21), *Alternaria* (48%, 10/21), *Penicillium* (38%, 8/21), *Cladosporium* (24%, 5/21), *Curvularia* (24%, 5/21), *Trichoderma* (24%, 5/21), *Fusarium* (5%, 1/21), e *Rhizopus* (5%, 1/21). Houve o isolamento de 10 espécies de leveduras que não foram reconhecidas pelo sistema Vitek.

Dos ambientes observados, oito foram classificados como limpos, oito como intermediários, três como sujos e dois como muito sujos. Os gêneros encontrados no ar de ambientes limpos foram *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Trichoderma* e *Rhizopus*. Nos ambientes intermediários foram identificados *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Curvularia* spp., *Trichoderma* spp., *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp. Já nos ambientes sujos foram encontrados: *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Curvularia* spp. e *Cladosporium* spp. e nos ambientes muito sujos os gêneros prevalentes foram: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Trichoderma* e *Fusarium*.

Embora os ambientes limpos e intermediários tenham apresentado maior diversidade de gêneros, as contagens de colônias foram baixas. Já os ambientes sujos e muito sujos apresentaram uma menor diversidade de gêneros, entretanto as contagens de colônias foram elevadas.

Os gêneros de fungos que coincidiram sua presença tanto no ar como nos utensílios foram: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Rhizopus* (tab.4)

Tabela 4- Relação dos gêneros de fungos mais prevalentes em cada utensílio com presença ou ausência desses fungos no ar e o tipo de ambiente

Tipo de ambiente	Gênero prevalente no utensílio	Tipo de utensílio	Presença no ar
Limpo	<i>Alternaria</i> spp.	Colher 4	Sim
Limpo	<i>Alternaria</i> spp.	Colher 6	Sim
Limpo	<i>Penicillium</i> spp.	Colher 7	Sim
Limpo	<i>Fusarium</i> spp.	Tábua 2	Não
Limpo	Leveduras	Faca 2	Não
Limpo	<i>Paecilomyces</i> spp.	Faca 3	Não
Limpo	Leveduras	Faca 4	Sim
Limpo	<i>Acremonium</i> spp.	Faca 6	Não
Intermediário	<i>Trichoderma</i> spp.	Faca 7	Não
Intermediário	<i>Penicillium</i> spp.	Faca 8	Não
Intermediário	<i>Penicillium</i> spp.	Faca 9	Não
Intermediário	<i>Aspergillus</i> spp.	Colher 1	Sim
Intermediário	<i>Aspergillus</i> spp.	Colher 3	Sim
Intermediário	<i>Penicillium</i> spp.	Colher 5	Sim
Intermediário	<i>Trichoderma</i> spp.	Colher 8	Sim
Intermediário	<i>Paecilomyces</i> spp.	Tábua 1	Não
Sujo	<i>Rhizopus</i> spp.	Colher 2	Não
Sujo	<i>Cladosporium</i> spp.	Tábua 3	Sim
Sujo	<i>Penicillium</i> spp.	Faca 5	Não
Muito sujo	<i>Cladosporium</i> spp.	Tábua 4	Não
Muito sujo	<i>Aspergillus</i> spp.	Faca 1	Sim

5 Discussão

O constante crescimento do setor alimentício e, particularmente de estabelecimentos que servem refeições coletivas tem contribuído de maneira significativa para o aumento de DTA's. Nesse contexto, os estabelecimentos de produção e comercialização de alimentos são uma das fontes para ocorrência de doenças de origem alimentar, sendo bactérias, fungos, vírus e parasitos os principais agentes etiológicos envolvidos nos surtos alimentares. A utilização de utensílios e outros instrumentos com higienização deficiente são os principais veículos de transmissão e contaminação dos alimentos com agentes microbianos patogênicos (BRASIL, 2014; KOCHANOSKI et al., 2009 apud ANDRADE E MACEDO, 1996). Estudos prévios comprovam que a precária higienização de equipamentos, utensílios e ambientes são as principais causas de surtos de DTA's no homem (SILVA JÚNIOR, 1995; FREITAS 1995; ROSSI, 2006). Os resultados obtidos no presente estudo corroboram esses relatos, evidenciando que 90% dos utensílios de madeira analisados apresentavam-se contaminados por fungos filamentosos e leveduriformes. Similarmente, Pinheiro, Wada e Pereira (2010) ao avaliarem tábuas de corte em estabelecimentos de preparo de alimentos constataram que em 90% das amostras havia contaminações por micro-organismos, sendo 80% bolores e leveduras. Adicionalmente, Andrade, Silva e Brabes (2003) observaram que 22,9% dos utensílios e equipamentos utilizados em restaurantes de Minas Gerais, incluindo cortadores de frios, cortadores de legumes, máquina de moer carne, placa de altileno, bandejas de refeições, talheres, pratos de louça e liquidificadores estavam contaminados por fungos e leveduras. Embora neste estudo não se tenha avaliado a presença de bactérias, alguns relatos tem apontado consideráveis contaminações bacterianas em utensílios de madeira (RODRIGUEZ, 2013; KOCHANOSKI et al., 2009; MALAGUETA JUNIOR, SILVA E SOUZA, 2012).

A ocorrência de um mesmo gênero fúngico tanto no ar como nos utensílios pode indicar o ar como uma possível fonte de contaminação. No entanto, os fungos que apenas foram detectados nos utensílios, podem ter sido originados de contaminações pelos próprios manipuladores, dos alimentos ou de outros ambientes em que o utensílio esteve presente.

Segundo Andrade, Silva e Brabes (2003), a técnica de sedimentação simples para detecção de fungos anemófilos não é classificada como uma metodologia muito eficiente para contagens e permite apenas demonstrar os grupos de micro-organismos presentes no ambiente estudado. Esses autores afirmam que é necessário detectar os tipos de micro-organismos presentes no ambiente para tomar medidas de higienização mais adequadas. Nesse contexto, os resultados obtidos evidenciam que tanto em ambientes limpos, intermediários, sujos, como muito sujos houve a presença de vários gêneros de fungos, o que sugere que as práticas de higienização dos ambientes estudados necessitam ser melhoradas. Segundo Silva Junior (2005) em ambientes de preparo de alimentos já foram detectadas algumas leveduras dos gêneros *Rodotorulla*, *Candida* e *Torulopsis*, e vários filamentosos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Mucor*, tendo sido alguns desses gêneros isolados no presente estudo. Além disso, os fungos anemófilos isolados dos ambientes de produção na presente pesquisa já foram isolados por Bernardi e Nascimento (2005) na cidade de Pelotas. As cozinhas dos ambientes de produção de alimentos apresentam alta taxa de fungos no ar. Esse fato foi comprovado por Li e Kuo (1992) ao avaliar fungos anemófilos em ambientes internos de residências, demonstrando que a cozinha foi o segundo ambiente com maior contaminação por fungos. Também evidenciaram que os ambientes internos possuíam maior concentração de fungos do que os ambientes externos. Rajasekar e Balasubramaniam (2011) ao correlacionar umidade relativa do ar dos ambientes com a incidência de fungos em praças de alimentação observaram correlação positiva entre as altas taxas de fungos com os altos valores de umidade relativa do ar. Além disso, nesse trabalho os autores observaram a predominância dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*, o que é similar ao encontrado no presente estudo. Adicionalmente, Kochanski et al. (2009) ao avaliar oito unidades de alimentação detectaram a presença de bolores e leveduras em todas as coletas de ar. Resultados semelhantes também foram encontrados por Andrade, Silva e Brabes (2003) ao avaliar a

contaminação ambiental de 63 ambientes, entre os quais foi possível observar a presença de fungos e leveduras em 95%.

Alguns gêneros anemófilos, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* e *Alternaria*, também isolados no nosso trabalho já foram testados por Mezzari et al. (2003) quanto à sua capacidade de sensibilização cutânea em um grupo de 39 indivíduos, sendo capazes de causar reações alérgicas. Os mesmos indivíduos apresentaram resultados equivalentes para testes sorológicos, comprovando a capacidade de sensibilização causada por esses fungos. Além disso, o gênero *Aspergillus*, isolado tanto de ambientes como de utensílios, é o agente causador de aspergilose, uma das doenças fúngicas mais prevalentes em indivíduos com imunossupressão. Segundo Faucz et al. (2006) a infecção pulmonar é a forma mais comum causada por fungos desse gênero e frequentemente relatada em pacientes imunocomprometidos. Silva (2010) afirma que essas manifestações pulmonares são a maior causa de mortalidade entre hospedeiros imunocomprometidos. No entanto, de acordo com Sales (2009) os sintomas e formas clínicas da aspergilose são decorrentes da resposta imune do hospedeiro podendo se manifestar como reação alérgica ou como forma invasiva.

O encontro de bolores e leveduras acima dos valores estabelecidos nesta pesquisa, além da utilização de utensílios de madeira indica que as condições higiênico-sanitárias das unidades de produção de alimentos avaliadas no município de Pelotas, são insatisfatórias, não havendo uma aplicação adequada de boas práticas nos estabelecimentos estudados. O desrespeito ou não cumprimento das normativas determinadas pela ANVISA é um fato comum, todavia, nem sempre detectado. Como exemplo, cita-se Pereira (2009) que ao avaliar as condições higiênico-sanitárias de 20 açougues demonstrou que em 100% deles as condições higiênico-sanitárias não eram condizentes aos valores estabelecidos no código sanitário, o que mostra o desrespeito ao cumprimento das normativas estabelecidas.

6 Conclusão

Os resultados permitem inferir que fungos filamentosos e leveduriformes estão presentes em utensílios de madeira recolhidos pela equipe da vigilância sanitária e podem ser uma possível fonte de contaminação para os alimentos e os consumidores. Com isso, reforça-se a normativa da ANVISA que estes não devem ser utilizados e devem ser recolhidos desses estabelecimentos.

Os resultados das análises evidenciam que os ambientes de produção de alimentos avaliados precisam tomar medidas higiênico-sanitárias preventivas, e melhorar suas técnicas de higienização dos utensílios e do ambiente.

Além disso, os fungos presentes nesses ambientes de produção de alimentos podem representar um risco à saúde dos funcionários e consumidores devido ao risco de causar uma série de doenças respiratórias e cutâneas.

Referências

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

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. Characteristics of fungi. In: Introductory Mycology. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1996. 865p.

APHA. **Compendium of methods for the methods for the microbiological examination of foods**. American Public Health Association. 3ed. Washington, 1992. 1220p.

ANDRADE, N. J.; SILVA, R. M. M.; BRABES, K. C. S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. Ciência e Agrotecnologia, v.27, n.3, p.590-596, 2003.

BARRETO, J. R.; SILVA, L. R. Intoxicações alimentares. In: **Pronto atendimento em Pediatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.1-72.

BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. do. Fungos Anemófilos na praia do Laranjal, Pelotas, RS. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.72, n.1, p.93-97, 2005.

BLUME, S. I.; RIBEIRO, G. A. Qualidade sanitária de talheres e pratos utilizados no Restaurante-Escola da Universidade Federal de Pelotas- UFPel. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15, 2006, Pelotas. **Anais do...** Pelotas: UFPel, 2006. Disponível em: <www.ufpel.edu.br/cic/2006/arquivos/CB_01064.rtf>. Acesso em: 18 dez. 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>>. Acesso em: 12 dez. 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000-2011. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/svs>>. Acesso em: 10 jan. 2014.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cartilha de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Trata sobre a Resolução nº 216/2004.

Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/83f33080474581508d9fdd3fbc4c6735/cartilha_gicra_final.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 25 jul. 2013.

BUZBY, J.; ROBERTS, T.; LIN, J.; MACDONALD, J. Bacterial foodborne disease: medical costs and productivity losses. Agricultural Economic Report [of] United States Department of Agriculture, v.1, n.1., p.1-81, 1996.

CASTELO-BRANCO, P. V. G. Fungos anemófilos isolados da cidade de São Luís-MA. 2010. 154f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia)- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, São Luis.

EMBRAPA Clima Temperado: Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária.

Disponível em: <<http://www.cpact.embrapa.br/index.php>>. Acesso em: 14 dez. 2012.

ENGORMIX: Fumonisinas: Alimentos e implicações na saúde. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-micotoxinas/artigos/fumonisinas-presenca-alimentos-implicacoes-t198/p0.htm>>. Acesso em: 25 jul. 2013.

FAUCZ, R. A.; QUADROS, M. S.; ANDRADE, C. A.; TRONCOSO, F. T.; RIBEIRO FILHO, N.; FURTADO, J. D.; SOUZA, R. P. Infecção pulmonar tripla em paciente gravemente imunocomprometido por AIDS: relato de caso. **Radiologia Brasileira**, v.39, n.1, p.79-82, 2006.

FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION: FDA Food and Beverages Requirements.

Disponível

em:

<http://www.registrarcorp.com/?s_kwcid=TC|9240|food%20and%20drug%20administration||S|b|30479582532&gclid=CODvrNDsgrsCFUgS7AodAQwAPw>. Acesso em: 25 jul. 2013.

FREITAS, L. H. Sistema especialista para diagnóstico de toxinfecções alimentares de origem bacteriana. 1995. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

KOCHANSKI, S.; PIEROZAN, M. K.; MOSSI, A. J.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R. L.; GHISLENI, C. P.; TONIAZZO, G. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição. *Alimentos e nutrição*, v.20, n.4, p.663-668, 2009.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Fungos, actinomicetos, algas de interesse médico**. 1.ed. São Paulo: Sarvier, 1998. 445p.

LI, C-S.; KUO, Y-M. Airborne Characterization of fungi indoors and outdoors. **Journal of Aerosol Science**. v.23 n.1, p.667-670,1992.

MALAGUETA JÚNIOR, F. G.; SILVA, M. E. T.; SOUZA, G. C. Avaliação higiênico-sanitário das mãos de manipuladores, equipamentos e utensílios no Mercado da Carne em Limoeiro do Norte-CE. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 7., 2012, Palmas. **Anais do...** Palmas: CONNEPI, 2012.

MASSAUT, K. B.; DECOL, L. T.; MOURA, T. M.; ORTIZ, A. S.; ALEIXO, J. A. Validação de procedimentos de higienização de uma unidade de alimentação e nutrição da cidade de Pelotas/RS. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2008, Pelotas. **Anais do...** Pelotas: UFPel, 2008. Disponível em: < www.ufpel.edu.br/cic/2008/cd/pages/pdf/CS/CS_00983.pdf >. Acesso em: 14 dez. 2012.

MCMEEKIN, T. A.; BROWN, J.; KRIST, K.; MILES, D.; NEUMEYER, K.; NICHOLS, D. S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. Quantitative microbiology: a basis for food safety. **Emerging Infectious Diseases**. v.3, n.4, p.541-549, 1997.

MEZZARI, A.; PERIN, C.; SANTOS JÚNIOR, S. A.; BERND, L. A. G.; GESU, G. D. Os fungos anemófilos e sensibilização de indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.49, n.3, p.270-273, 2003.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: Doenças transmitidas por alimentos e água (DTA)/2007. Disponível em:< http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/148doencas_alim_agua.html>. Acesso em: 25 jul. 2013.

PEREIRA, E.; RAMALHOSA, E.; FERNANDES, L.; LOPES-DA-SILVA, M. F. A. P. Avaliação das condições microbiológicas de superfícies e manipuladores do ramo alimentar. Resultados preliminares. In: JORNADAS DE BRAGANÇA, 2., 2008, Bragança. Anais do... Bragança: ESAB, 2008. p.17-18.

PEREIRA, J. B. **Avaliação das boas práticas em açougues no mercado municipal de Tailândia-PA**. 2009. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós-graduação em Higiene e Inspeção em Produtos de Origem Animal)-Curso de Medicina Veterinária, Universidade Castelo Branco, Belém.

PINHEIRO, M. B.; WADA, T. C.; PEREIRA, C. A. M. Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma Instituição de Ensino Superior em São Carlos, SP. *Revista Simbio-logias*, v.3, n.5, p.115-124, 2010.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Generalidades sobre fungos. In: **Os reinos do fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2004. p.11-35.

QUALFOOD: Base de Dados de Qualidade e Segurança Alimentar. Disponível em:<http://qualfood.biostrument.com/center/conteudos/ver_conteudo.php?id_conteudo=8>. Acesso em: 8 dez. 2012.

RAJASEKAR, A.; BALASUBRAMANIAN, R. Assessment of airborne bacteria and fungi in food courts. *Building and environment*, v.46, n.10, p.2081-2087, 2011.

- RODRIGUES, D. G. **Avaliação higiênico-sanitária de equipamentos e utensílios de supermercados de Itapecerica- MG**. 2013. 37f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Formiga- MG, Formiga.
- ROSSI, C. F. Condições higiênico–sanitárias de restaurantes comerciais do tipo *selfservice* de Belo Horizonte-MG. 2006. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SALES, M. P. U. Aspergillosis: from diagnosis to treatment. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.35, n.12, p.1238-1244, 2009.
- SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6.ed. São Paulo: Varela, 2005. 625p.
- SILVA, L. F.; Fungos: um estudo sobre sua ocorrência nos alimentos. 2008. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia)-Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SILVA, R. F. Infecções fúngicas em imunocomprometidos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.36, n.1, p.142-147, 2010.
- STEURER, K.; VOLOSKI, F.; BARTZ, J.; MELLO, M.; GANDRA, E. A. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de uma lanchonete universitária da cidade de Pelotas, RS. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18., 2009, Pelotas. Anais do... Pelotas: UFPel, 2009. Disponível em: www.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_01748.pdf >. Acesso em: 19 dez. 2012.
- ZAINA, F. E.; CARON, S. M.; NAGAI, S. M. K.; LOPES, R. W. Alimentação segura em estados de imunossupressão. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.19, n.3, p.132-137, 2004.

Anexos

ANEXO A- Ficha técnica para caracterização da coleta

Número da coleta:

Data:

Material recolhido:

() tábuas de corte () colher de pau () faca de madeira

Presença de ar condicionado:

() Sim () Não

Temperatura:

Descrição do local:

() Sujo () Intermediário () Muito sujo () Limpo

Coleta do ar:

Coletar duas placas em cada ponto a aproximadamente 1m do chão por aproximadamente 10 minutos e identificar o número na placa para cada ponto

ex: Ponto 1A e Ponto 1B

Ponto 1 (onde??).....

Ponto 2 (onde??).....