

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde

Jade da Silva Antunes

**Identificação de cenários de tempo e temperatura no processamento e distribuição de alface minimamente processada recebida em um hospital universitário no sul do Brasil e predição da multiplicação de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesse alimento**

Porto Alegre  
2020

Jade da Silva Antunes

**Identificação de cenários de tempo e temperatura no processamento e distribuição de alface minimamente processada recebida em um hospital universitário no sul do Brasil e predição da multiplicação de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesse alimento**

Dissertação de Mestrado Acadêmico como requisito parcial à obtenção do título de Mestre e Alimentação, Nutrição e Saúde do Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Beatriz Almeida de Oliveira

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo César Tondo

Porto Alegre

2020

## CIP - Catalogação na Publicação

da Silva Antunes , Jade  
Identificação de cenários de tempo e temperatura no processamento e distribuição de alface minimamente processada recebida em um hospital universitário no sul do Brasil e predição da multiplicação de Salmonella spp., Escherichia coli e Listeria monocytogenes nesse alimento / Jade da Silva Antunes .  
-- 2020.  
47 f.  
Orientador: Ana Beatriz Almeida de Oliveira.

Coorientador: Eduardo César Tondo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Microbiologia preditiva. 2. Contaminação . 3. Vegetal folhoso . 4. Patógenos bacterianos. 5. Surtos.  
I. Almeida de Oliveira, Ana Beatriz, orient. II.

César Tondo, Eduardo, coorient. III. Título.  
Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**Jade da Silva Antunes**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO**

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de

**MESTRE EM ALIMENTAÇÃO, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde (PPGANS)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: 24/04/2020

Pela Banca Examinadora:

---

**ANA BEATRIZ ALMEIDA DE OLIVEIRA**  
Orientadora - PPGANS/UFRGS

---

Banca - **ELIS REGINA GOMES ALFAMA (PUCRS)**

---

Banca - **SUSANA DE OLIVEIRA ELIAS (UFRGS)**

---

Banca - **THAIS ORTIZ HAMMES (HCPA)**

## AGRADECIMENTOS

Com o papel de representar o fechamento de um ciclo, venho por meio destas palavras demonstrar meu agradecimento a todos que de alguma forma estiveram presentes nestes últimos anos e também fizeram parte disso.

Primeiramente, aos meus pais, que abriram mão de muitas coisas para o meu bem, pela dedicação, amor e todos os princípios passados. Mãe, sem dúvida nenhuma pode afirmar que não estaria aqui hoje sem o todo o teu esforço.

A todos familiares, pelo amor e torcida em todos os desafios da minha vida. Aos meus avós, tão valiosos, pelo carinho tão grande. Minha avó Naura, tristemente ausente fisicamente, serei eternamente grata pela criação e sei que de onde estiver sempre está torcendo por mim.

À Ana B., sendo difícil chamá-la somente de professora, pois seu carinho, cuidado e encorajamento durante todo esse período fizeram a chegada ao final ser possível. Muito obrigada por tudo, todas as conversas, conselhos e aprendizados passados. Tu és, antes de uma excelente professora, uma pessoa incrível, que eu tive a sorte de ter me guiando nesse ciclo.

À Cláudia, por todo aprendizado passado, sempre com muita paciência e me inspirando como cientista e mulher. Muito obrigada por ter aceitado, desde o início, nos apoiar nesse trabalho. Tu foste essencial para que conseguíssemos realiza-lo.

Ao prof. Eduardo, por também ter aceitado e encorajado a realização desse trabalho, por toda sabedoria passada e também pela inspiração, através do encantamento que tens por essa área.

Às mais que amigas, Jéssica, Mariana, Gisele, Anelise, Vithoria, Laura e amigo, Raphael, muito obrigada pela compreensão nos momentos de ausência, saber que mesmo assim tinha vocês por perto e ainda torcendo para que no final tudo desse certo, ajudava a enfrentar os momentos difíceis.

A todas as pessoas que de alguma forma me encorajaram a iniciar esse ciclo e durante todo o meio dele, até finalmente chegar ao fim.

Cada um de vocês contribuiu de alguma forma importante nessa jornada.

Muito obrigada a todos, amo vocês.

*“É preciso força pra sonhar e perceber  
que a estrada vai além do que se vê”*

*Marcelo Camelo*

## RESUMO

O controle de tempo e temperatura durante a cadeia de processamento e distribuição das alfaces em serviços de nutrição e dietética de hospitais deve ser monitorado para evitar a multiplicação de micro-organismos. O objetivo deste estudo foi identificar diferentes cenários de tempo e temperatura, desde o recebimento até a entrega, de alfaces minimamente processadas a pacientes de um hospital universitário do sul do Brasil e prever a multiplicação de *Salmonella* spp. *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesses cenários. Foram coletados 631 registros de tempo e temperatura a partir de um fluxograma do processamento das alfaces em um hospital no sul do Brasil e analisadas as multiplicações de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* nessas condições. Para prever o comportamento desses micro-organismos, foi utilizado o software ComBase, onde foram selecionados modelos de crescimento estático para cada módulo. A menor temperatura encontrada foi de 0,3°C, no recebimento do produto no hospital, enquanto a maior foi de 25,8°C, no módulo de distribuição nos leitos hospitalares. O tempo total do processo, do recebimento até a distribuição para o paciente, variou de 2,063 a 7,07 horas, sendo a mediana 3,1 horas. Além da média das temperaturas encontradas em todos módulos, que foi de 15,1°C, sendo esta considerada o cenário real, também foram simulados cenários com outras temperaturas, por exemplo, 7°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C para avaliar a multiplicação de todos os micro-organismos. Os resultados demonstraram que *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. não apresentaram potencial de crescimento nas temperaturas abaixo de 20°C, enquanto que *Listeria monocytogenes* não apresentou multiplicação em temperaturas abaixo de 25°C. Na análise da multiplicação dos micro-organismos considerando as médias de temperaturas do cenário real, nenhum apresentou potencial de crescimento. As médias das temperaturas encontradas, juntamente com os tempos máximos de cada etapa não foram capazes de promover multiplicação microbiana para os patógenos estudados. Embora os dados do presente estudo tenham demonstrado que os patógenos citados não puderam se multiplicar nos cenários de tempo e temperatura identificados, é importante salientar que as alfaces minimamente processadas que são recebidas no hospital devem possuir baixo nível de contaminação microbiológica, uma vez que grande parte dos seus consumidores são considerados população de risco.

**Palavras chave:** Microbiologia preditiva; contaminação; vegetal folhoso; patógenos bacterianos; surtos.

## ABSTRACT

The time and temperature control during the processing and distribution chain of lettuce in hospital nutrition and diet services must be monitored to prevent the microorganisms multiplication. The objective of this study was to identify different scenarios of time and temperature, from the reception to delivery of minimally processed lettuce, to patients in a hospital in southern Brazil and to predict the growth of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. 631 time and temperature records were collected from a flowchart of lettuce processing and the growths of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in these conditions were predicted. To predict the behavior of these microorganisms, the ComBase software was used, where static growth models for each module were selected. The lowest temperature found was 0,3°C, when receiving the product at the hospital, while the highest was 25,8°C, in the distribution module in hospital beds. The total time of the process, from receipt to distribution to the patient, ranged from 2,063 to 7,07 hours, with a median of 3,1 hours. In addition the average temperature found in all modules, which was 15,1°C, this being considered the real scenario, to assess the growth of all microorganisms scenarios were simulated with other temperatures, i.e. 7°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C. The results showed that *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. showed no growth potential at temperatures below 20°C, while *Listeria monocytogenes* did not show multiplication at temperatures below 25°C. In the analysis of the multiplication of microorganisms considering the average temperatures of the real scenario, none showed growth potential. The average temperatures found, together with the maximum times for each stage, were not able to promote significant microbial growth for the studied pathogens. Although the data from the present study demonstrated that the pathogens cited were unable to multiply in the identified time and temperature scenarios, it is important to note that minimally processed lettuces that are received at the hospital must have a low level of microbiological contamination, since they are large part of its consumers are considered at risk population.

**Keywords:** Predictive microbiology; contamination; leafy vegetable; foodborne pathogen; outbreaks.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>13</b>
3.1 VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS (VMP)	13
3.2 SERVIÇOS DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA HOSPITALAR	15
3.3 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)	16
3.4 MICRO-ORGANISMOS SELECIONADOS PARA ESTE ESTUDO	17
<b>3.4.1 <i>Salmonella</i> spp.</b>	<b>17</b>
<b>3.4.2 <i>Escherichia coli</i></b>	<b>18</b>
<b>3.4.3 <i>Listeria monocytogenes</i></b>	<b>19</b>
3.5 MICROBIOLOGIA PREDITIVA	20
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>21</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A alimentação em serviços de saúde ou refeições dietoterápicas, onde se enquadram os hospitais, é um macro segmento do setor de alimentação coletiva no Brasil (PINHEIRO, 2012). A segurança dos alimentos servidos em hospitais é fundamental, tendo em vista que neste local se encontram indivíduos com o sistema imunológico debilitado, como crianças, que ainda não o apresentam totalmente desenvolvido, ou gestantes e idosos, que podem apresentar este sistema comprometido (STANGARLIN et al., 2013). Há também doenças e medicamentos utilizados para tratamentos que podem causar supressão imunológica (LUND; O'BRIEN, 2011; FORSYTHE, 2013).

Quando se trata da produção de refeições em grande escala, os vegetais minimamente processados podem ser uma alternativa para otimizar o trabalho, já que são adquiridos prontos para o consumo (OLIVEIRA et al., 2011). No entanto, diversos fatores podem afetar a qualidade higiênico-sanitária no processamento destes alimentos, destacando as variações de tempo e temperatura em todas as etapas, incluindo distribuição, armazenamento e consumo (CASTRO-IBAÑEZ; GIL; ALLENDE, 2017; ROCCATO; UYTENDAELE; MEMBRÉ, 2017). Além disso, o tempo de distribuição das refeições em hospitais pode variar e ser mais prolongado devido ao número de andares, copas e pacientes.

O número de pesquisas relacionando a presença de patógenos em vegetais folhosos tem aumentado, tendo em vista que essa categoria de alimentos tem sido frequentemente associada à surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (DELIBATO et al., 2018; TURNER et al., 2019). Dentro dessa categoria está a alface (*Lactuca sativa*), cotidianamente compondo a salada dos brasileiros e das dietas hospitalares, sendo o vegetal folhoso mais consumido no país e no mundo (SALA; COSTA, 2012). Uma vez que este alimento é consumido cru, é importante que a carga microbiana desse seja a menor possível, a fim de evitar DTA (WADAMORI; GOONERATNE; AHUSSAIN, 2016).

Patógenos podem ser inseridos na produção primária ou em qualquer outra etapa da cadeia de produção e distribuição de folhosos, podendo se multiplicar caso ações de higiene e controle de temperatura não forem realizadas de forma correta. *Salmonella* spp., *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) são importantes causadores de DTA no mundo todo e em alface minimamente processada (KYERE et al., 2018; TURNER et al., 2019; SANT'ANA et al., 2012; WADAMORI; GOONERATNE; AHUSSAIN, 2016). Em uma revisão de surtos associados a vegetais folhosos, nos Estados Unidos, de 1973 a 2012, os patógenos que frequentemente causaram mais surtos foram Norovírus, *E.a coli* e *Salmonella* spp. (HERMAN et al, 2014). Além disso, no Brasil, *E. coli* e *Salmonella* spp. foram os micro-

organismos mais envolvidos em surtos de origem alimentar no período de 2009 a 2018 (BRASIL, 2019). Já *L. monocytogenes*, além de ser frequentemente encontrada em vegetais folhosos, tem como alvo de infecção principalmente indivíduos com o sistema imunológico comprometido e possui uma alta taxa de mortalidade (20 a 50%) (GMA, 2018; LITTLE et al., 2009; BUCHANAN et al., 2017; EFSA, 2018; STAVROPOULOU; BEZIRTZOGLU, 2019).

Como ferramenta para prever o comportamento de micro-organismos, a microbiologia preditiva utiliza modelos matemáticos para descrever as diferentes reações destes a ações de variáveis do meio e dos alimentos. Ela possui diversas aplicações, podendo identificar a temperatura máxima em que um micro-organismo não se multiplica, resultando em um tempo máximo de exposição à determinada condição, tornando-se uma ferramenta valiosa na gestão da segurança de alimentos, tendo aplicação ao longo de toda a cadeia de produção e distribuição (PÉREZ-RODRIGUEZ; VALERO, 2012; FORSYTHE, 2013; WHITING, 1995).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar cenários de tempo e temperatura, desde o recebimento até o consumo por pacientes, de alface minimamente processada em um hospital universitário no sul do Brasil e simular a multiplicação dos patógenos *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nestas condições através da microbiologia preditiva.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo foi identificar diferentes cenários de tempo e temperatura, desde o recebimento até a entrega de alfaces minimamente processadas, a pacientes de um hospital universitário do sul do Brasil e prever a multiplicação de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesses cenários.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os cenários de tempo e temperatura das etapas de produção e distribuição da salada de alface minimamente processada no hospital, desde o recebimento até o consumo pelo paciente no leito.
- Simular o comportamento de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* na temperatura encontrada nos cenários reais da produção da salada de alface minimamente processada no hospital.
- Propor estratégias e medidas de controle para a gestão do tempo e temperatura na produção da salada de alface minimamente processada no hospital.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 VEGETAIS MINIMAMENTE PROCESSADOS (VMP)

Vegetais minimamente processados (VMP) são definidos como “Frutas, legumes ou hortaliças, ou a combinação destas, que tenham sido submetidas a um processamento, o qual pode incluir seleção, corte, fatiamento, lavagem, desinfecção, enxágue, centrifugação, embalagem e armazenamento, entre outros, permanecendo em estado fresco, com qualidade sensorial adequada e seguro ao consumo” (RIO GRANDE DO SUL, 2017). O processamento destes vegetais pode variar de um simples aparar, como por exemplo, a retirada das folhas superficiais impróprias de folhosos, a outras técnicas específicas, como o descasque e fatiamento de variadas formas, seguidos da higienização. Após o processamento, estes alimentos são embalados e devem ser mantidos refrigerados até o consumo (FRANCIS; THOMAS; O’BEIRNE, 1999).

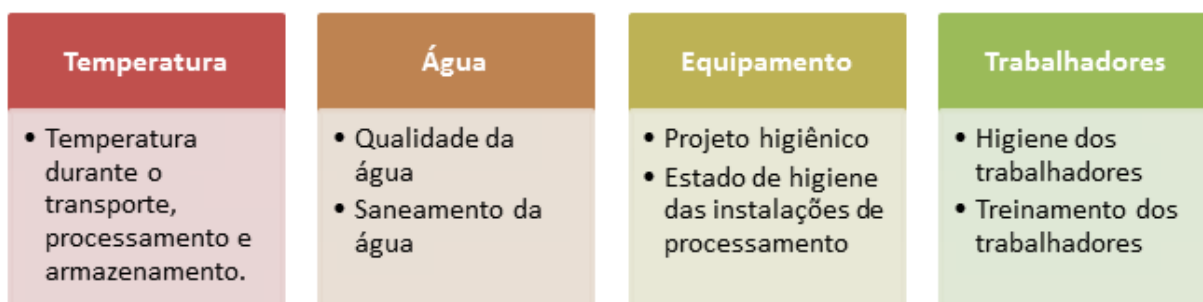
Esses alimentos começaram a ser comercializados no Brasil a partir da década de 1990 como forma de adaptação aos hábitos da sociedade moderna, que tem como características o controle do tempo associado à busca por uma alimentação saudável (GERMANO; GERMANO, 2014). Além disso, em produção de refeições em grande escala, os vegetais minimamente processados podem ser uma alternativa para otimizar o trabalho já que são adquiridos prontos para o consumo (OLIVEIRA et al., 2011).

Micro-organismos patogênicos podem estar presentes nestes vegetais por via de contaminação no processamento ou ainda na matéria-prima (FRANCIS; THOMAS; O’BEIRNE, 1999; KOSEKI; ISOBE, 2005). Sendo assim, a prevenção da contaminação em nível primário de produção até o consumo é essencial, pois patógenos podem ser introduzidos, sobreviver e ainda se multiplicar durante a cadeia produtiva e de distribuição (UYTTENDAELE; FRANZ; SCHLÜTER, 2015).

Pelo fato destes vegetais serem submetidos a processos de higienização, que envolve a qualidade da água utilizada e corretas técnicas na lavagem e desinfecção, além de procedimentos de corte e descasque, que podem provocar o aumento de micro-organismos, é importante que as empresas produtoras destes alimentos sigam a legislação vigente, a fim de fornecerem um produto seguro ao consumidor (GARCIA et al., 2015; RIO GRANDE DO SUL, 2017). Além disso, especialmente para vegetais folhosos, que na maioria das vezes são consumidos crus, o risco de contaminações de seus consumidores por patógenos alimentares é aumentado, uma vez que o processamento térmico poderia diminuir a carga microbiana do

alimento. Portanto é importante que essa seja a mais baixa possível, a fim de evitar DTA (WADAMORI; GOONERATNE; AHUSSAIN, 2016; SCHUENZEL; HARRISON, 2002). Os principais micro-organismos que podem ser encontrados em vegetais minimamente processados são *Salmonella* spp., *Shigella*, *Campylobacter*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila* (GARCIA et al., 2015).

O controle da temperatura no armazenamento e na distribuição dos VMP é um dos fatores mais importantes para manutenção da qualidade e segurança destes alimentos, visto que esse monitoramento pode reduzir o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos (ARAÚJO et al., 2014). Este fator também é demonstrado em um artigo de revisão publicado por Castro-Ibañez, Gil e Allende (2017) que descreveram os principais problemas na cadeia de produção e as possíveis soluções para diminuir o risco microbiano em VMP. Outros fatores relevantes que afetam a qualidade microbiológica destes alimentos também são apresentados, como a qualidade e saneamento da água, higiene das instalações e equipamentos, assim como a higiene e treinamento dos trabalhadores (figura 1). Destacando que a segurança destes vegetais depende de cuidados em todas as etapas de cultivo, processamento, distribuição e consumo.



**Figura 1: Principais fatores de risco microbiológico no processamento de vegetais minimamente processados. (Adaptado de Castro-Ibañez, Gil e Allende, 2017)**

Oliveira et al. (2011) analisaram 162 amostras de folhosos minimamente processados provenientes de supermercados da cidade de Ribeirão Preto, em São Paulo e, apesar dos aparentes aspectos visuais e olfativos adequados, encontraram coliformes totais em 97,5%, coliformes termotolerantes em 66% e ainda *Escherichia coli* em 53% das amostras. Estes resultados indicam a importância de assegurar as práticas de higiene adequadas pela indústria, com o objetivo de diminuir o risco de transmissão de patógenos por estes alimentos ao consumidor final.

Devido a grande demanda destes alimentos pelo mercado consumidor e o risco sanitário envolvido, a Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul publicou a portaria SES 90/2017, que dispõe o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação e de Procedimentos Operacionais Padronizados para a industrialização de frutas e vegetais minimamente processados e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de frutas e vegetais minimamente processados (RIO GRANDE DO SUL, 2017). Esta portaria se destina aos produtores e/ou industrializadores de VMP.

Dentre os VMP mais consumidos no Brasil destaca-se a alface (*Lactuca sativa*), pois é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo (SALA; COSTA, 2012). Ainda, o atual Guia Alimentar para a População Brasileira, recomenda que o consumo de alimentos *in natura* ou minimamente processados seja a base para uma alimentação balanceada em termos nutricionais, além de promover aspectos culturais, sociais e sustentáveis ao meio ambiente (BRASIL, 2014). Tendo em vista que o consumo de vegetais é muito importante para a construção de uma alimentação saudável, pois são importantes fontes de vitaminas, minerais e fibras, a garantia de segurança destes alimentos é essencial.

### 3.2 SERVIÇOS DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA HOSPITALAR

Em um hospital, o Serviço de Nutrição e Dietética (SND) é o setor em que são desenvolvidas atividades relacionadas à alimentação e nutrição, tanto dos pacientes, como dos seus acompanhantes e colaboradores. As áreas que compõem este serviço são pelo menos: recebimento, preparação, armazenamento, copas de distribuição, lactário e nutrição enteral (STANGARLIN et al., 2013). Os profissionais do SND têm o papel de pesquisar, planejar e gerenciar constantemente os processos para garantir a eficiência e qualidade destes (KIM; KIM; LEE, 2010).

A alimentação hospitalar tem papel fundamental para o tratamento e recuperação dos pacientes, tendo em vista que os alimentos são fontes de energia e nutrientes. Sendo assim, é imprescindível que as refeições oferecidas em locais de saúde sejam de qualidade (DALL'OGGIO et al., 2015), nutricionalmente equilibradas e seguras do ponto de vista microbiológico (LUND; O'BRIEN, 2009; STANGARLIN et al., 2013). Para isso, boas práticas de manipulação neste serviço são importantes para evitar falhas no processo de produção que possam comprometer a segurança dos alimentos (GONÇALVES et al., 2013; STELLATO; STORIA; ERCOLINI, 2015), prevenindo assim a infecção hospitalar, sendo

esse um dos critérios para os programas de acreditação (HAPSARI; PERMANA; LISTIOWATI, 2018), que consistem em certificados de qualidade em serviço de saúde.

No Brasil, hospitais e unidades de saúde representam 4,2% na distribuição de locais de ocorrência de surtos por DTA (BRASIL, 2019). Este dado se torna importante, devido a taxa de mortalidade e os efeitos das toxi-infecções alimentares poderem ser dez vezes maiores neste público, tendo em vista que nestes locais se encontram indivíduos com o sistema imunológico debilitado e um número menor de organismos patogênicos nos alimentos pode causar uma DTA (LUND; O'BRIEN, 2011; FORSYTHE, 2013).

### 3.3 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (DTA)

Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são conceituadas por Silva Junior (2014, p. 51) como:

“Todas as ocorrências clínicas consequentes à ingestão de alimentos que possam estar contaminados com microrganismos patogênicos (infecciosos, toxinogênicos ou infestantes), substâncias químicas, objetos lesivos ou que contenham em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas, ou seja, são doenças consequentes à ingestão de perigos biológicos, químicos ou físicos presentes nos alimentos”.

O número preciso de DTA não pode ser aferido, somente estimado, e ainda assim com vieses, pois muitas vezes as pessoas costumam não procurar cuidados médicos quando os sintomas são moderados e de pouca duração. Outro fato importante é de que quando o serviço médico é procurado, nem sempre os sintomas são investigados pelos médicos e também apenas uma pequena parcela é notificada às autoridades (FORSYTHE, 2013).

Em uma estimativa feita pelo Sistema Nacional de Notificação de Surtos do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos, foi estimado que, dos anos de 2011 à 2016, cerca de 85 mil pessoas foram vítimas de DTA. Destas, em torno de 5 mil foram hospitalizadas e 148 foram a óbito (EUA, 2018). Já no Brasil, conforme os dados publicados pelo Ministério da Saúde, dos anos de 2009 à 2018 foram notificados 6.809 surtos por DTA, com 16.632 internações hospitalares e 99 óbitos (BRASIL, 2019).

Em relação aos agentes etiológicos responsáveis pelos surtos de DTA no Brasil entre os anos 2009 e 2018 estão em ordem decrescente, respectivamente: *Escherichia coli* (23,4%), *Salmonella* spp. (11,3%), *Staphylococcus aureus* (9,4%), Coliformes (6,5%), Norovírus (3,9%), Rotavírus (3,1%), *Sighella* (3%), *Bacillus cereus* (2,3%), *Clostridium perfringens* (1,6%), e vírus da Hepatite A (1,2%) (BRASIL, 2019).



### 3.4 MICRO-ORGANISMOS SELECIONADOS PARA ESTE ESTUDO

#### 3.4.1 *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. é uma bactéria Gram negativa, dividida em duas espécies: enterica e bongori, e dentro destas existem aproximadamente 2.500 sorotipos, sendo todos considerados potencialmente patogênicos e diferindo em seus hospedeiros e nas doenças que causam. São anaeróbias facultativas e não formadoras de endósporos. Sua temperatura ideal de multiplicação é 38°C, podendo iniciar em 5°C e ser inativada à 60°C, sendo relativamente termosensível. É uma importante causadora de DTA e umas das quatro principais causas de doenças diarreicas no mundo. Sua dose infecciosa varia de 20 a 10<sup>6</sup> células, alterando conforme o estado de saúde e idade do indivíduo, o alimento relacionado a infecção e a cepa pertencente (FORSYTHE, 2013; WHO, 2018). Tem um período de incubação de 12 a 72 horas, podendo causar infecção alimentar com sintomas gastrointestinais que podem durar de 2 a 7 dias (TONDO; BARTZ, 2019).

Presente principalmente no trato intestinal de animais, a *Salmonella* spp. é eliminada nas fezes, podendo ser conseqüentemente transportada para outros locais, como a água, por exemplo, que por sua vez pode contaminar novamente outros animais ou ainda humanos e alimentos. Sendo assim, fatores como o cuidado nas etapas de compostagens orgânicas e a qualidade da água utilizada na irrigação das alfaces, são muito relevantes para manter a qualidade microbiológica na produção deste alimento (CEUPPENS et al., 2014). Os veículos mais comuns causadores de salmonelose em humanos são ovos, frangos, carne e produtos lácteos, porém diversos surtos também têm sido associados a vegetais (JAY, 2005; FORSYTHE, 2013).

*Salmonella* spp. está entre as três bactérias que mais afeta pessoas mundialmente (WHO, 2019). Nos Estados Unidos, é estimado que cause 1,35 milhões de infecções, 26.500 hospitalizações e 420 mortes por ano (CDC, 2020). No Brasil, nos anos de 2009 a 2018, foi responsável por 11,3% dos surtos de DTA, estando em segundo lugar na distribuição dos agentes etiológicos causadores de surtos (BRASIL, 2019).

*Salmonella* spp. é um dos patógenos mais envolvidos em surtos alimentares associados à vegetais folhosos (ELIAS; NORONHA; TONDO, 2018) e ainda está frequentemente associada aos VMP (FRANCIS; THOMAS; O'BEIRNE, 1999). O controle de temperatura em todas as etapas de produção, distribuição e consumo é essencial para o controle da multiplicação deste patógeno nesses alimentos (SANT'ANA; FRANCO; SCHAFFNER, 2014; KOSEKI; ISOBE, 2005).

### 3.4.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* é uma bactéria Gram negativa, anaeróbia facultativa e não formadora de esporos pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Está presente naturalmente no intestino humano e de outros animais. Apesar da maioria das *E. coli* serem consideradas inofensivas aos seres humanos, algumas cepas podem causar infecções intestinais graves, além de possuírem uma alta variação de virulência (FORSYTHE, 2013; RODRÍGUEZ-ANGELES, 2002; YANG et al., 2017).

As *E. coli* patogênicas são divididas em cinco grupos, conforme seus sintomas clínicos e mecanismos de patogenicidade. Todas causam diarreia como sintoma, porém com formas e gravidades diferentes. *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) pode causar diarreia sanguinolenta, colite hemorrágica e até progredir para síndrome urêmica hemolítica (HUS). Este grupo compreende a *E. coli* produtora de shigatoxina e existem diversos tipos de sorovares, incluindo O157:H7, que é frequentemente envolvido com surtos de DTA mundialmente. É necessário um baixo número de EHEC para causar infecção (FORSYTHE, 2013; YANG et al., 2017; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é o maior causador da conhecida diarreia dos viajantes, que afeta milhões de turistas anualmente, comum em países subdesenvolvidos e de climas tropical e subtropical (BAUCHE; DUPONT, 2011). *E. coli* enteropatogênica (EPEC) é uma importante causadora de diarreia em crianças, além de produzir lesões intestinais de adesão e desaparecimento (FORSYTHE, 2013; YANG et al., 2017). *E. coli* enteroagregativa (EAggEC) causa diarreia aquosa persistente, sendo também associada à má nutrição e retardo no crescimento, através de uma inflamação crônica no intestino. Além disso, EAggEC tem maior probabilidade de ser resistente a antibióticos, comparada a outros patógenos diarreicos (OKHUYSEN; DUPONT, 2010; FORSYTHE, 2013). *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) afeta células do cólon, causando diarreia semelhante a desintéria (FORSYTHE, 2013; YANG et al., 2017; KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

*E. coli* é o agente etiológico que mais causou surtos de DTA no Brasil no período de 2009 à 2018 (BRASIL, 2020). Nos últimos anos, *E. coli* O157:H7 causou diversos surtos pelo consumo de alface ou vegetais folhosos nos Estados Unidos da América (EUA). O mais recente, finalizado em 15 de janeiro de 2020, causado por alface cultivada na região de Salinas Valley, na Califórnia, teve 167 pessoas infectadas em 27 estados diferentes (CDC, 2019).

### 3.4.3 *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* é uma das espécies do gênero *Listeria*, sendo dividida em 13 sorovares. É uma bactéria gram-positiva e não formadora de esporos. Diferentemente de outros patógenos alimentares, é resistente a diversas condições ambientais, podendo se multiplicar numa ampla faixa de temperatura (0° a 42°C) e de pH (4,1 a 9,6). Pode crescer em temperaturas de refrigeração e sobreviver nos alimentos em situações adversas por tempo prolongado. É encontrada em uma grande variedade de alimentos, como queijos, carnes, embutidos de carnes, frutos do mar, vegetais e vegetais processados (FORSYTHE, 2013; JAY, 2005; GMA, 2018; LITTLE et al., 2009; NICAOGÁIN; O'BYRNE, 2016).

A dose infecciosa de *L. monocytogenes* é controversa, porém se sabe que raramente causa infecção em indivíduos saudáveis. Seu alvo são principalmente indivíduos com o sistema imunológico comprometido, como gestantes e faixas etárias menores de um ano e maiores de 60 anos. Possui uma alta taxa de mortalidade (20%) e sintomas graves como meningite e aborto (FORSYTHE, 2013; JAY, 2005; BUCHANAN et al., 2017).

Segundo a Orientação Sobre Monitoramento Ambiental e Ações Corretivas em Alimentos de Risco para *L. monocytogenes* para indústrias, publicado em 2018 pela Grocery Manufacturers Association (GMA), a presença de *L. monocytogenes* nos produtos prontos para consumo ocorre porque:

- 1) Não houve um tratamento de eliminação ou diminuição do número de bactérias no produto ou a etapa ocorreu mas foi insuficiente, sendo assim, produtos distribuídos podem não ter passado por um processo suficiente para eliminar a *L. monocytogenes*, como exemplo, frutas frescas ou frescas cortadas e legumes;
- 2) Os produtos são submetidos a um tratamento de eliminação da bactéria, mas são processados incorretamente (por exemplo, um processo térmico insuficiente);
- 3) O produto recebeu um tratamento de eliminação da bactéria, mas foi contaminado ou recontaminado no ambiente de processamento.

No Brasil, não há registros de surtos causados por *L. monocytogenes* em alimentos. Porém, sua presença em alimentos é prevalente, sendo encontrada frequentemente em vegetais folhosos, e podendo se multiplicar inclusive em VMP (CARRASCO et al, 2008; BRANDÃO et al., 2013; KIERE et al, 2018). Em 2016, um surto de listeriose nos EUA, causado pelo consumo de saladas adquiridas prontas para o consumo, afetou 19 pessoas e causou uma morte (CDC, 2016). A gestão higiênico-sanitária dos estabelecimentos produtores de refeições e a utilização de medidas de controle são a melhor forma de diminuir o risco de infecção por *L. monocytogenes* (DAELMAN et al., 2013; BUCHANAN et al., 2017).

### 3.5 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Fatores intrínsecos e extrínsecos, como atividade de água, pH, umidade relativa e atmosfera, podem afetar a multiplicação microbiana em alimentos. A microbiologia preditiva descreve de forma quantitativa, através de modelos com elementos de microbiologia, matemática e informática, que preveem o comportamento dos micro-organismos diante da variação destes fatores (FORSYTHE, 2013; OLIVEIRA et al., 2013; WHITING, 1995).

De modo geral, os modelos preditivos avaliam parâmetros cinéticos de multiplicação, dentre eles: duração da fase lag; velocidade específica máxima de multiplicação (velocidade que a população duplica dentro da fase exponencial) e densidade populacional máxima de multiplicação final (maior contagem microbiana, na fase estacionária). Para tanto, os modelos matemáticos são obtidos através dos dados de estudos laboratoriais com os micro-organismos sob condições experimentais (BATY & DELIGNETTE-MULLER, 2004; OLIVEIRA et al., 2013).

A modelagem microbiana preditiva possui diversas aplicações, como a previsão do comportamento de micro-organismos durante a estocagem, auxiliando no desenvolvimento de produtos e em estudos de vida de prateleira; a predição da eficiência da higiene e dos processos de produção e distribuição dos alimentos, gerando material para educação e treinamento, para o controle de qualidade e na predição de riscos (MILLER et al., 2004; FORSYTHE, 2013; OLIVEIRA et al., 2013; MEZARROBA et al., 2016).

Os modelos preditivos são classificados em três níveis. O modelo primário descreve o comportamento do número microbiano a partir de mudanças no tempo sob condições ambientais como temperatura, pH e atividade de água. O modelo de Gompertz e o modelo de Baranyi são os mais utilizados neste nível. O modelo secundário é utilizado para mostrar as respostas aos parâmetros do primeiro nível. Já os modelos terciários utilizam os níveis anteriores para gerar modelos que calculam o comportamento microbiano sob as diferentes condições ambientais e também compara os efeitos dessas mudanças. Estes modelos são utilizados em formato de software, estando de fácil acesso para a utilização da microbiologia preditiva (FORSYTHE, 2013; WHITING, 1995).

## 4 RESULTADOS

Os materiais e métodos, como também os resultados desta dissertação, serão apresentados na sequência em formato de artigo científico.

### **Identificação de cenários de tempo e temperatura no processamento e distribuição de alface minimamente processada recebida em um hospital universitário no sul do Brasil e predição da multiplicação de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesse alimento**

*Jade da Silva Antunes*<sup>1</sup>, *Claudia Titze Hessel*<sup>2</sup>, *Eduardo César Tondo*<sup>2</sup>, *Ana Beatriz Almeida de Oliveira*<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – PPGANS. R. Ramiro Barcelos, 2400 - Santa Cecília, CEP 90035-003 - Porto Alegre/RS/Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – ICTA/UFRGS. Avenida Bento Gonçalves, 9500 – Campus do Vale – Prédio 43212, Laboratório 205 – CEP 91501-970 - Porto Alegre/RS/Brasil.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – PPGANS e Centro de Estudos em Alimentação e Nutrição – CESAN/UFRGS do Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecília, CEP -90035-007 - Porto Alegre/RS/Brasil.

#### **Resumo**

O controle de tempo e temperatura durante a cadeia de processamento e distribuição das alfaces em serviços de nutrição e dietética de hospitais deve ser monitorado para evitar a multiplicação de micro-organismos. O objetivo deste estudo foi identificar diferentes cenários de tempo e temperatura, desde o recebimento até a entrega, de alfaces minimamente processadas a pacientes de um hospital universitário do sul do Brasil e prever a multiplicação de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nesses cenários. Foram coletados 631 registros de tempo e temperatura a partir de um fluxograma do

processamento das alfaces em um hospital no sul do Brasil e analisadas as multiplicações de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* nessas condições. Para prever o comportamento desses micro-organismos, foi utilizado o software ComBase, onde foram selecionados modelos de crescimento estático para cada módulo. A menor temperatura encontrada foi de 0,3°C, no recebimento do produto no hospital, enquanto a maior foi de 25,8°C, no módulo de distribuição nos leitos hospitalares. O tempo total do processo, do recebimento até a distribuição para o paciente, variou de 2,063 a 7,07 horas, sendo a mediana 3,1 horas. Além da média das temperaturas encontradas em todos módulos, que foi de 15,1°C, sendo esta considerada o cenário real, também foram simulados cenários com outras temperaturas, por exemplo, 7°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C para avaliar a multiplicação de todos os micro-organismos. Os resultados demonstraram que *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. não apresentaram potencial de crescimento nas temperaturas abaixo de 20°C, enquanto que *Listeria monocytogenes* não apresentou multiplicação em temperaturas abaixo de 25°C. Na análise da multiplicação dos micro-organismos considerando as médias de temperaturas do cenário real, nenhum apresentou potencial de crescimento. As médias das temperaturas encontradas, juntamente com os tempos máximos de cada etapa não foram capazes de promover multiplicação microbiana para os patógenos estudados. Embora os dados do presente estudo tenham demonstrado que os patógenos citados não puderam se multiplicar nos cenários de tempo e temperatura identificados, é importante salientar que as alfaces minimamente processadas que são recebidas no hospital devem possuir baixo nível de contaminação microbiológica, uma vez que grande parte dos seus consumidores são considerados população de risco.

**Palavras chave:** Microbiologia preditiva; contaminação; vegetal folhoso; patógenos bacterianos; surtos.

## 1 Introdução

A alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo, inclusive no Brasil (SALA; COSTA, 2012). Usualmente utilizada em sua forma crua, é comum ser adquirida já pronta para a utilização (minimamente processada), principalmente em locais de produção de refeições em grande escala, como nos hospitais.

Para vegetais minimamente processados que não sofrem cocção, a prevenção da contaminação e o controle de temperatura, desde a produção no campo até o consumo, são essenciais, pois patógenos alimentares podem ser incorporados, sobreviver e ainda se

multiplicar durante a produção, transporte e o armazenamento desses alimentos (UYTTENDAELE; FRANZ; SCHLÜTER, 2015; DELIBATO et al., 2018). O controle de tempo e temperatura durante a cadeia de processamento e distribuição deve ser destacado como um dos fatores mais importantes para a garantia de qualidade microbiológica destes alimentos, a fim de evitar a multiplicação de patógenos (ARAÚJO et al., 2014; CASTRO-IBÁÑEZ, GIL e ALLENDE, 2017) e microrganismos deteriorantes.

Os surtos por Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) em hospitais e unidades de saúde representaram 4,2% dos locais de ocorrência no Brasil, de 2009 à 2018 (BRASIL, 2019). Este dado se torna importante, uma vez que nesses locais se concentram determinadas populações que apresentam o sistema imunológico comprometido ou parcialmente desenvolvido e, conseqüentemente, possuem um maior risco de serem acometidas por DTA. Além disso, a taxa de mortalidade se torna dez vezes maior nestes grupos da população (FORSYTHE, 2013; TREVEJO et al., 2005).

A microbiologia preditiva utiliza modelos matemáticos para descrever os diferentes comportamentos de micro-organismos em função de variáveis do meio e dos alimentos. Ela possui diversas aplicações, podendo identificar a temperatura máxima em que um micro-organismo não se multiplica, resultando em um tempo máximo de exposição à determinada condição, tornando-se uma ferramenta valiosa na gestão da segurança de alimentos, tendo aplicação ao longo de toda a cadeia de produção e distribuição (PÉREZ-RODRIGUEZ; VALERO, 2012; FORSYTHE, 2013; WHITING, 1995).

Tendo em vista que o tempo de distribuição das refeições em hospitais pode ser prolongado devido ao número de andares, copas e pacientes, o objetivo desta pesquisa foi identificar os cenários de tempo e temperatura da produção e distribuição da salada de alface minimamente processada em um hospital universitário no município de Porto Alegre/RS e prever a multiplicação dos micro-organismos *Salmonella* spp, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* nestas condições.

## **2 Materiais e métodos**

### **2.1 Coleta de dados**

A pesquisa foi realizada no Serviço de Nutrição e Dietética de um hospital universitário no sul do Brasil. No momento desse estudo, o hospital possuía 843 leitos e prestava assistência em diversas especialidades, na sua maioria do Sistema Único de Saúde (SUS). Anualmente, realizava cerca de 600 mil consultas, três milhões de exames, 40 mil

procedimentos cirúrgicos, 32 mil internações, 3,5 mil partos, 470 transplantes. As equipes eram coordenadas por professores da universidade e sua atuação segue padrões internacionais de qualidade e segurança certificadas pelo selo de Acreditação da *Joint Commission International*. Os dados de temperaturas foram coletados de agosto a dezembro de 2018 nesse hospital, que recebia diariamente alface minimamente processada para preparo da salada dos pacientes e funcionários.

As temperaturas da etapa de recebimento foram retiradas das planilhas de monitoramento e registro do recebimento de fornecedores do hospital aferidas com termômetro infravermelho. As temperaturas das demais etapas foram obtidas também com o uso de um termômetro infravermelho calibrado, da marca Incoterm, com valor de divisão de  $0,1^{\circ}\text{C}$  e faixa de temperatura de  $-60$  à  $500^{\circ}\text{C}$ . Essa coleta foi realizada através do acompanhamento das etapas de produção da salada de alface minimamente processada para os pacientes, onde as temperaturas foram aferidas durante os processos e registradas em um *software* que ao final da coleta de dados gerou uma planilha no *software* Excel. Durante o acompanhamento das etapas, também foi observado o tempo de duração dos processos, sendo possível estimar o tempo mínimo, máximo e a mediana de cada uma destas.

## 2.2 Ajuste de dados à distribuição

Os dados de temperaturas foram compilados em planilhas do *software* Excel, onde cada etapa (módulo) foi distribuída em uma coluna. O programa @Risk (Palisade corporation, versão 6.3.1) foi utilizado para ajustar os dados em distribuições, as quais foram testadas: BetaGeneral, ChiSq, Expon, Logistic, LogLogistic, LogNorm, Normal, Pareto, Pert, Student, Triangular, Uniform e Weibull. Como medida de qualidade do ajuste, cada distribuição foi classificada de acordo com o menor valor de raiz do erro quadrático médio (RMSE) de cada módulo e foram selecionadas de acordo com o estudo de Roccatto, Uyttendaele e Membré (2017).

Os dados do tempo não foram ajustados às distribuições, pois foi escolhida a distribuição Pert. Essa é considerada a mais apropriada para este tipo de dados, pois possibilita estimar o tempo de conclusão a partir das melhores estimativas de valores mínimo, máximo e mais provável para um processo, sendo geralmente escolhida para o ajuste de distribuição deste parâmetro (ALFAMA et al., 2019).

## 2.3 Análise preditiva



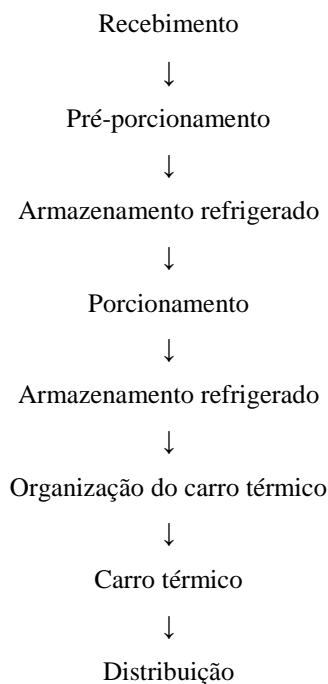
Tratando-se de um ambiente hospitalar, foram escolhidos os micro-organismos *Salmonella* spp., *E. coli* e *L. monocytogenes* por serem importantes causadores de DTA no mundo todo e em alface minimamente processada (KYERE et al., 2018; TURNER et al., 2019; SANT'ANA et al., 2012; WADAMORI; GOONERATNE; AHUSSAIN, 2016). Além disso, *E. coli* e *Salmonella* spp. são os microrganismos mais envolvidos em surtos de origem alimentar no Brasil de 2009 a 2018 (BRASIL, 2019) e *L. monocytogenes*, além de ser frequentemente encontrada em vegetais folhosos, tem como alvo de infecção principalmente indivíduos com o sistema imunológico comprometido. Casos de listeriose são raros e surtos de *L. monocytogenes* usualmente são poucos, porém possui uma alta taxa de mortalidade (20 a 50%) e pode causar sintomas graves como meningite e aborto (GMA, 2018; LITTLE et al., 2009; BUCHANAN et al., 2017; EFSA, 2018; STAVROPOULOU; BEZIRTZOGLU, 2019).

Para prever o comportamento destes micro-organismos, foi utilizado o software ComBase ([www.combase.cc](http://www.combase.cc)), onde foram selecionados modelos de crescimento estático. A média de temperatura encontrada nos módulos, considerada o cenário real, foi calculada através das médias encontradas pelo ajuste de distribuição. Os dados da temperatura de armazenamento no resfriador foram excluídos deste cálculo, uma vez que os dados do refrigerador foram utilizados para representar esta etapa pelo número da amostra e por ser mais frequentemente utilizado no processo real. Também foram utilizadas as seguintes temperaturas, como outros cenários de distribuição: 7°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Elas foram utilizadas para simular a multiplicação de todos os microrganismos. O nível inicial dos microrganismos foi assumido como 2 log UFC/g. Os valores de pH e de atividade de água da alface foram encontrados na literatura de 5,97 e 0,996, respectivamente (FDA, 2003; BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2007).

### **3 Resultados e discussão**

#### **3.1 Descrição dos módulos do processamento e distribuição da alface minimamente processada no hospital**

Inicialmente, foram identificados oito módulos, onde foi construído um fluxograma do processamento da salada de alface, desde o recebimento da matéria-prima no hospital até a distribuição para o paciente (Figura 1).



**Figura 1: Oito módulos da cadeia de produção e distribuição da salada de alface minimamente processada da chegada ao hospital até o consumo pelo paciente**

*3.1.1 Recebimento:* Neste setor, no momento da entrega, as temperaturas da alface minimamente processada foram aferidas com termômetro infravermelho. Os dados foram anotados em planilha de monitoramento e registro. Além da temperatura, também foram conferidas a quantidade e o aspecto dos vegetais. Após o recebimento, a quantidade de alfaces necessária para o almoço foi encaminhada para o Setor Salada e o restante foi acondicionado em câmara fria. Este processo de recebimento levava em média 30 minutos.

*3.1.2 Pré-porcionamento:* No Setor Salada, as alfaces foram retiradas das embalagens plásticas e colocadas em um tanque preenchido com água potável por dois minutos, onde em seguida foram retiradas e colocadas em cubas de inox perfuradas para que o excesso de água escorra. As alfaces foram cortadas sobre tábua destinada somente para vegetais e colocadas em cubas de inox, que foram armazenadas no refrigerador ou no resfriador, onde ficaram por aproximadamente 30 minutos, até o momento de serem transportadas para o próximo setor. O processo desde a chegada ao Setor Salada até o acondicionamento refrigerado levava, em média, 20 minutos. As cubas de alface foram retiradas do armazenamento refrigerado (ou resfriador) do Setor Salada e transportadas através de carro não térmico até o Setor Copa Centralizada em dois minutos. Diariamente eram utilizados de 2 kg a 6 kg de alface para o preparo da salada dos pacientes, variando esta quantidade conforme o cardápio das saladas.

*3.1.3 Porcionamento:* Ao chegar no Setor Copa Centralizada, as cubas foram imediatamente acondicionadas em refrigeração. Essas foram retiradas sucessivamente da refrigeração e colocadas na bancada, onde as alfaces foram servidas com pegador em embalagem individual plástica descartável com tampa. As embalagens foram organizadas em caixas específicas para cada copa, e quando completas, foram armazenadas novamente na refrigeração por até 20 minutos. O processo do início do porcionamento até a refrigeração das caixas levava em torno de 30 minutos. Este setor era climatizado e todas as funcionárias utilizavam máscara facial durante o processo. Outras saladas e preparações também eram embaladas nesse setor, porém havia um cuidado com o risco de contaminação cruzada, sendo que cada alimento possuía seu utensílio próprio e era preparado separadamente.

*3.1.4 Distribuição:* A Auxiliar de Nutrição de cada copa retirava no Setor Copa Centralizada sua caixa contendo as saladas e transportava até seu andar em cima do carro térmico (local não refrigerado). Este transporte possuía curto tempo, geralmente de até cinco minutos. Chegando à Copa de destino, as porções individuais foram organizadas dentro da área fria do carro térmico. Esse processo levava em média quinze minutos. Após, o carro era fechado e ligado, onde ficava por trinta minutos gerando refrigeração. Na hora da distribuição para os pacientes, o carro era retirado da fonte e levado até o corredor onde ocorre a entrega das refeições nos leitos. Essa distribuição levava aproximadamente vinte minutos e o carro permanecia com a porta aberta desde o início até o final da distribuição. Passados trinta minutos da entrega da refeição aos pacientes, as funcionárias retornavam aos leitos para a retirada dos pratos, sendo esse o tempo máximo que os pacientes possuíam para o consumo da salada.

## **3.2 Dados de tempo e temperatura**

Durante todos os módulos de processamento da alface minimamente processada existem diversos fatores que podem influenciar na contaminação e multiplicação microbiológica, sendo o tempo e a temperatura importantes condições a serem monitoradas para a segurança do alimento. Todos os módulos foram acompanhados de forma que os tempos máximos, mínimos e a mediana de tempo foram registrados. Foram coletados 631 dados de temperaturas da alface minimamente processada desde o recebimento até a entrega da salada ao paciente no hospital. A menor temperatura encontrada foi de 0,3°C, no recebimento do produto no hospital, enquanto a maior foi de 25,8°C, no módulo de distribuição nos leitos hospitalares (Tabela 1). Em relação ao tempo total do processo no

hospital, do recebimento até a distribuição para o paciente, variou de 2,063 à 7,07 horas, sendo a mediana 3,1 horas.

Em relação à legislação vigente que rege as Boas Práticas para Serviços de Alimentação do estado do Rio Grande do Sul em que a pesquisa foi realizada, alguns dados apresentaram temperatura acima dos limites permitidos (RIO GRANDE DO SUL, 2009). Como demonstrado na Tabela 1, no recebimento da alface minimamente processada foi encontrada temperatura máxima de recebimento de 17°C, enquanto essa deveria estar igual ou inferior à 7°C. Porém, a média ( $4,21 \pm 3,51^\circ\text{C}$ ) e a mediana ( $3,2^\circ\text{C}$ ) se encontram dentro do limite e 76,9% dos dados estavam abaixo de 5°C (Tabela 2), demonstrando que apesar do valor máximo encontrado, na maioria das vezes o processo respeitava o limite determinado.

Nos módulos de pré-porcionamento e porcionamento houve um aumento de temperaturas, com médias de  $18,97 \pm 2,91^\circ\text{C}$  e  $16,49 \pm 3,27^\circ\text{C}$  (Tabela 1), respectivamente. O valor encontrado no pré-porcionamento foi maior do que o do porcionamento, que também apresentou 45,7% dos dados acima de 20°C (Tabela 2), provavelmente devido a segunda ser realizada em sala com ambiente climatizado, diferente da primeira, que ocorre em temperatura ambiente. O tempo de manipulação nesses módulos pode influenciar na multiplicação dos micro-organismos, sendo um importante fator para controle de risco. Se considerado o tempo máximo de cada módulo de forma individual, que foi de uma hora no pré-porcionamento e 0,75 horas no porcionamento (Tabela 1), esses dados respeitam a Portaria nº 78/2009 (RIO GRANDE DO SUL, 2009) que define que os vegetais folhosos crus já higienizados e sem outro alimento misto podem ser mantidos em temperatura ambiente por até uma hora durante a preparação do alimento. Porém, se for considerada a soma das etapas de manipulação, ultrapassa os limites definidos.

As temperaturas de armazenamento no refrigerador também apresentaram médias acima do permitido pela legislação, que dispõe  $<5^\circ\text{C}$  (RIO GRANDE DO SUL, 2009), sendo as médias de  $13,41 \pm 4,09^\circ\text{C}$  no pré-porcionamento e  $13,05 \pm 3,89^\circ\text{C}$  (Tabela 1), no porcionamento. Porém, quando feito o uso do resfriador, a alface minimamente processada apresentou temperaturas com uma média de  $4,48 \pm 5,09^\circ\text{C}$  (Tabela 1), com 66,7% dos registros abaixo de 5°C (Tabela 2), demonstrando que esse equipamento pode ser utilizado para o controle deste processo no hospital.

As médias de temperaturas encontradas durante a organização do carro térmico e da alface minimamente processada dentro do carro térmico, após o processo de resfriamento, foram de  $18,67 \pm 2,92^\circ\text{C}$  e  $17,74 \pm 5,09^\circ\text{C}$ , respectivamente. Esse resultado mostra que o uso

do equipamento não está sendo eficaz, apontando falha na utilização, uma vez que 48,4% da salada estava acima de 20°C (Tabela 2) após o resfriamento.

A distribuição apresentou 43,9% dos dados iguais ou acima de 20°C (Tabela 2), resultado que pode colocar em risco a qualidade do alimento, uma vez que essa etapa pode levar até 0,5 horas e após a distribuição, o paciente ainda possui trinta minutos para realizar a refeição, antes dos alimentos serem recolhidos para descarte. Neste módulo foi encontrada a temperatura máxima de 25,8°C e média de  $18,25 \pm 4,27$  °C (Tabela 1). Alfama et al. (2019) encontraram a média de  $11,4 \pm 4,9$  °C na distribuição da salada de alface em restaurantes industriais e relatam a dificuldade de manter a baixa temperatura em vegetais folhosos, devido ao ar presente entre as folhas, o que dificulta a transferência do frio (ALFAMA et al., 2019).

**Tabela 1: Dados de tempo e temperatura e parâmetros estatísticos obtidos pelo ajuste da distribuição dos módulos da alface minimamente processada desde o recebimento até a distribuição ao paciente no hospital**

Módulo	Temperatura					Distribuição de acordo com o @Risk	Tempo		
	n	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Mediana (°C)	Média±DP (°C)		Mínimo (h)	Máximo (h)	Mediana (h)
Recebimento	121	0,3	17,00	3,2	4,21 ± 3,51	RiskLoglogistic	0,33	0,66	0,42
Pré-porcionamento	46	9,5	22,8	19,75	18,97 ± 2,91	RiskPert	0,16	1	0,25
Armazenamento (Refrigerador)	34	5,40	21,80	13,95	13,41 ± 4,09	RiskLogistic	0,25	1	0,5
Armazenamento (Resfriador)	6	0,5	14,10	2,9	4,48 ± 5,09	RiskExpon;RiskShift	0,25	1	0,5
Porcionamento	191	5,4	22,4	17,4	16,49 ± 3,27	RiskPert	0,33	0,75	0,5
Armazenamento Refrigerador	69	0,6	20,1	13,2	13,05 ± 3,89	RiskWeibull;RiskShift	0,25	1	0,33
Organização do carro térmico	76	10,40	24,90	18,6	18,67 ± 2,92	RiskLogistic	0,25	0,66	0,33
Carro térmico	31	7,50	23,60	19,90	17,74 ± 5,09	RiskBetaGeneral	0,16	0,5	0,33
Distribuição	57	9,90	25,80	18,20	18,25 ± 4,27	RiskBetaGeneral	0,083	0,5	0,25

**Tabela 2: Cenários de distribuição de temperaturas dos módulos do processo de produção e distribuição da salada de alface minimamente processada do hospital**

Cenários de temperatura	Módulos n (%)								
	Recebimento	Pré- porcionamen to	Armazename nto (Refrigerado r)	Armazename nto (Resfriador)	Porcionamen to	Armazename nto Refrigerador	Organização carro térnico	Carro térnico	Distribuição
≤5°C	93 (76,9)	0	0	4 (66,7)	0	3 (4,3)	0	0	0
5,1-10°C	17 (14)	1 (2,2)	9 (26,6)	1 (16,7)	8 (4,2)	11 (15,9)	0	3 (9,7)	1 (1,8)
10,1-15°C	10 (8,3)	5 (10,9)	12 (35,3)	1 (16,7)	45 (23,6)	33 (47,8)	7 (9,2)	9 (29)	15 (26,3)
15,1 – 20°C	1 (0,8)	19 (41,3)	12 (35,3)	0	120 (62,8)	20 (29)	44 (57,9)	4 (12,9)	16 (28,1)
>20,1°C	0	21 (45,7)	1 (2,9)	0	18 (9,4)	2 (2,9)	25 (32,9)	15 (48,4)	25 (43,9)
Total	121	46	34	6	191	69	76	31	57

### 3.3 Predição da multiplicação microbiana

A microbiologia preditiva descreve o comportamento de micro-organismos sob diferentes fatores através de modelos matemáticos desenvolvidos a partir de dados de estudos laboratoriais (OLIVEIRA et al., 2013). É uma ferramenta de grande importância para avaliação, otimização e controle na produção e distribuição de alimentos, pois permite prever a segurança microbiológica do produto final através da avaliação do comportamento de determinados micro-organismos durante os processos (MILLER et al., 2004). Dessa forma, este estudo utilizou esta ferramenta para avaliar o comportamento dos patógenos alimentares *E. coli*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. nos cenários encontrados de produção e distribuição da salada de alface minimamente processada no hospital.

O potencial de crescimento ( $\delta$ ) de um micro-organismo em alimentos é uma medida definida pela diferença da população final de um organismo no final do seu prazo de validade e a sua população inicial. Quando os valores de  $\delta$  dos micro-organismos são menores ou iguais a 0,5 log UFC/g, são considerados não capazes de se multiplicar no determinado alimento (SANT'ANA, 2012). Na Tabela 3, é mostrada a multiplicação dos três micro-organismos estudados em diferentes temperaturas no tempo de oito horas, que foi utilizado por ser o tempo máximo de todo o processo, sendo a soma do tempo máximo de cada módulo.

*E. coli* e *Salmonella* spp. não apresentaram potencial de crescimento nas temperaturas abaixo de 20°C, enquanto que *L. monocytogenes* não apresentou abaixo de 25°C. Com exceção dos módulos de recebimento e de armazenamento no resfriador, em todos os demais módulos foram encontradas temperaturas máximas acima de 20°C (Tabela 1), aumentando o risco de multiplicação destes micro-organismos no processo. Apesar de não apresentar potencial de crescimento, *L. monocytogenes* foi o único micro-organismo que se multiplicou a 7°C, pois é psicotrófica e se multiplica em temperaturas de refrigeração (NICAOGÁIN; O'BYRNE, 2016).

Veys et al. (2016) desenvolveram um modelo preditivo de multiplicação de *Salmonella* spp. e *E. coli* O157:H7 em alface expostas a diferentes temperaturas. Neste estudo, a alface foi considerada segura na temperatura de 10°C por até 24 horas, uma vez que não foi observada multiplicação microbiana. Na temperatura de 25°C, *Salmonella* spp.



aumentou 4 log UFC/g, após 10 horas, corroborando com o estudo mais recente de Elias, Noronha e Tondo (2018), que também encontraram resultados semelhantes.

Apesar da condição de tempo e temperatura encontrada neste estudo ser considerada segura para o processamento e distribuição, a partir dos resultados da análise preditiva de multiplicação dos micro-organismos, deve-se relevar que tanto as médias como as medianas das temperaturas registradas, de cinco dos oito módulos identificados no processamento da salada de alface minimamente processada, estavam acima da média da temperatura do cenário real, que foi de 15,1°C. Como exemplo, no último módulo do processo, na distribuição do alimento, 43,9% dos dados estavam acima de 20°C (Tabela 2).

Ao verificar na legislação nacional, RDC 216 (BRASIL, 2004), não há recomendações de temperaturas para a distribuição de alimentos frios. No entanto, a Portaria CVS 5 (SÃO PAULO, 2013), do estado de São Paulo, recomenda critérios de tempo e temperatura para distribuição dos alimentos frios de até 10°C, no máximo por quatro horas, e entre 10°C e 21°C, no máximo por duas horas, corroborando com a necessidade de verificar o tempo e a temperatura no processamento das saladas para distribuição para os pacientes. A utilização de planilhas de monitoramento de distribuição pode ser uma alternativa de controle para este processo, que apresentou temperaturas acima das ideais.

Estudos registram que a dose infectante de *E. coli* entero-patogênica varia de 10<sup>8</sup> a 10<sup>10</sup> células (GOMES et al, 2016; LEVINE et al., 1978) e da *Salmonella* spp. pode variar de 10<sup>5</sup> a 10<sup>8</sup>, apesar de terem sido observadas doses  $\leq 10^3$  em pacientes imunocomprometidos (BRASIL, 2011). Quanto à dose infectante de *L. monocytogenes*, em pessoas suscetíveis, menos de 10<sup>3</sup> organismos podem causar sintomas de DTA (SÃO PAULO, 2013; BRASIL, 2013). Sendo assim, as temperaturas máximas encontradas neste estudo, acima de 20°C, em sete dos oito módulos identificados no processamento e distribuição da salada (Tabela 1), dependendo do tempo a que ficarem expostas, podem favorecer a multiplicação de *E. coli*, *Salmonella* spp. e de *L. monocytogenes* (se temperaturas acima de 25°C), conforme demonstrado na Tabela 3, podendo colocar em risco pacientes imunodeprimidos.

A Tabela 4 apresenta a análise da multiplicação dos micro-organismos nos módulos individuais do processo, através das médias das temperaturas e dos tempos máximos encontrados em cada módulo. O pré-porcionamento apresentou multiplicação de 0,01 log UFC/g para *E. coli* e o mesmo valor para *Salmonella* spp. A média de temperatura desse módulo foi de 18,97 °C pelo máximo de tempo de uma hora (Tabela 1). Durante a

organização do carro térmico, *E. coli* também apresentou potencial de multiplicação de 0,01 log UFC/g (Tabela 4). Nesse módulo, a média de temperatura foi de 17,74°C com um máximo de tempo de 0,5 horas (Tabela 1). Apesar de outros módulos apresentarem uma média de temperatura elevada, como a distribuição, com 18,25°C, essas não possuem tempo de duração suficiente para a multiplicação microbiológica. Alfama et al. (2019), ao analisar a temperatura de distribuição de diferentes alimentos em restaurantes industriais, também não encontraram potencial de crescimento em alface no cenário real de distribuição, que teve multiplicação de 0,46 log UFC/g de *Salmonella* spp. e 0,05 log UFC/g de *L. monocytogenes*.

**Tabela 3: Multiplicação estimada de *E. coli*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. (Log CFU/g) calculado pelo Software ComBase, considerando diferentes cenários de temperatura pelo tempo de oito horas**

Micro-organismos	Temperatura °C						Cenário Real (15,1)
	7	10	15	20	25	30	
<i>E. coli</i>	ND	0.01	0.08	0.64	2.26	4	0,1
<i>L. monocytogenes</i>	0.01	0.01	0.04	0.2	0.74	1.46	0,05
<i>Salmonella</i> spp.	0	0.01	0.08	0.61	2.3	4.29	0,09

ND: dado não disponível

**Tabela 4: Multiplicação estimada de *E. coli*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* (Log CFU/g) calculado pelo Software ComBase, considerando as médias de temperaturas e tempos máximos dos diferentes módulos**

Micro-organismos	Módulos							
	Recebimento	Pré- porcionamento	Armazenament o refrigerador	Porcionamento	Armazenament o refrigerador	Organização carro térmico	Carro térmico	Distribuição
<i>E. coli</i>	0	0,01	0	0	0	0,01	0	0
<i>L. monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella</i> spp.	0	0,01	0	0	0	0	0	0

#### 4 Conclusões

- ✓ Foram encontrados dados de temperaturas acima do permitido pela legislação estadual nos módulos de recebimento e armazenamento.
- ✓ Não houve potencial de crescimento nos micro-organismos quando analisadas os módulos com seus tempos máximos e médias de temperaturas individuais.
- ✓ Foi identificado, através da análise preditiva, que no tempo de oito horas, considerado o tempo máximo do processamento completo, *Salmonella* spp. e *E. coli* apresentam potencial de crescimento a partir de 20°C, enquanto que *L. monocytogenes* também apresentou a partir de 25°C.
- ✓ O cenário real com a média das temperaturas não apresentou condições de tempo e temperatura capazes de sustentar potencial de crescimento para *Salmonella* spp., *E. coli* e *L. monocytogenes*. Estes resultados preditivos demonstram que o cenário real da produção e distribuição da salada de alface minimamente processada no hospital é seguro. Porém, não se pode concluir e assegurar que o alimento seja seguro, uma vez que foram encontradas temperaturas propícias para a multiplicação microbiana em diversos módulos. Sendo assim, o controle do tempo demonstrou como fator essencial para não multiplicação dos microrganismos estudados.
- ✓ O cenário real não apresentou condições para a multiplicação dos patógenos analisados na alface minimamente processada com carga inicial assumida como de 2 log UFC/g. Portanto, a escolha de fornecedores adequados é um ponto essencial para garantir a qualidade final do alimento, uma vez que se a alface minimamente processada chegar contaminada no hospital, os consumidores podem estar em risco. Ainda, são necessários dados que demonstrem a qualidade microbiológica dos alimentos minimamente processados na chegada aos estabelecimentos de produção.
- ✓ Por segurança, devido à população de risco do estudo, é recomendável que pacientes imunocomprometidos não consumam a alface minimamente processada, para minimizar o risco de consumir alimentos contaminados.
- ✓ É sugerido que o hospital implemente um fluxo de controle para alface minimamente, incluindo a elaboração de planilhas de monitoramento de temperatura da distribuição dos alimentos preparados para os pacientes, uma vez que nos dados encontrados quase metade da alface minimamente processada foi distribuída em temperaturas acima de 20°C. Sendo assim, a temperatura máxima de

15°C para o tempo máximo do processo (oito horas), é sugerida a partir dos resultados encontrados neste estudo.

- ✓ Também é sugerida a redução de etapas de processamento com o objetivo de reduzir o tempo e ainda as variações de temperatura sofridas pela alface minimamente processada no hospital.
- ✓ O uso do resfriador na etapa de processamento também é uma sugestão para redução das temperaturas no processo, uma vez que os dados coletados neste estudo da alface com a utilização deste equipamento apresentaram média e mediana de temperaturas abaixo de 5°C.

## Referências

ALFAMA, E. R. G., HESSEL, C. T., ELIAS, S. O., MAGALHÃES, C. R. P., SANTIAGO, M. F. T., ANSCHAU, M., TONDO, E. C.. Assessment of temperature distribution of cold and hot meals in food services and the prediction growth of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 106, p. 1-8, 2019.

ARAÚJO, W. M. C., MONTEBELLO, N. P., BOTELHO, R. B. A., BORGIO, L. A. (Org.). **Alquimia dos Alimentos**. 3. ed. Brasília: Editora SENAC-DF, 2014.

BARBOSA-CÁNOVAS G. V., FONTANA A. J., Jr., SCHMIDT S. J., LABUZA T. P. **Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications**. (2007)

<<http://www.amac.md/Biblioteca/data/30/14/10/60.2.pdf>> Acesso em: 25 fev. 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.** 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil: Informe 2019.**

Disponível em:

<<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>>. Acesso em: 27 jan. 2020.

BUCHANAN, R. L., GORRIS, L. G. M., HAYMAN, M. M., JACKSON, T. C., WHITING, R. C. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p.1-13, 2017.

CASTRO-IBÁÑEZ, I.; GIL, M. I.; ALLENDE, A. Ready-to-eat vegetables: Current problems and potential solutions to reduce microbial risk in the production chain. **Food Science and Technology**, v. 85, p.284-292, 2017.

DELIBATO, E.; LUZZI, I.; PUCCI, E.; PROROGA, Y. T.; CAPUANO, F.; MEDICI, D. Fresh produce and microbial contamination: persistence during the shelf life and efficacy of domestic washing methods. persistence during the shelf life and efficacy of domestic washing methods. **Annali Dell'istituto Superiore di Sanità**, v. 54, n. 4, p. 358-363, 2018.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), SCIENTIFIC OPINION *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. **EFSA Journal**. n.16, p.5134, 2018.

ELIAS, S. O.; NORONHA, T. B.; TONDO, E. C. Assessment of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 growth on lettuce exposed to isothermal and non-isothermal conditions. **Food Microbiology**, v. 72, p.206-213, 2018.

Food and Drug Administration (FDA). **Approximate pH of foods and food products.**

2003. <[http://www.webpal.org/SAFE/aaarecovery/2\\_food\\_storage/Processing/lacfpsh.htm](http://www.webpal.org/SAFE/aaarecovery/2_food_storage/Processing/lacfpsh.htm)>. Acesso em 25 fev 2020.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

GOMES, T. A. T., ELIAS, W. P., SCALETSKY, I. C. A., GUTH, B. E.C., RODRIGUES, J. F.; PIAZZA, R. M. F.; FERREIRA, L. C. S.; MARTINEZ, M. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**. n.47, p.3-30, 2016.

GROCERY MANUFACTURERS ASSOCIATION (GMA) *Listeria monocytogenes* Guidance on Environmental Monitoring and Corrective Actions in **At-risk Foods**. July, 2018.

KYERE, E. O.; PALMER, J.; WARGENT, J. J.; FLETCHER, G. C.; FLINT, S. Colonisation of lettuce by *Listeria Monocytogenes*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 1, p. 14-24, 2018.

LEVINE, M. M., NALIN, D. R.; HORNICK, R. B.; BERGQUIS, E. J.; WATERMAN, D. H.; YOUNG, C. R., SOTMAN, S. *Escherichia coli* strains that cause diarrhea but do not produce heat-labile or heat-stable enterotoxins and are non-invasive. **The Lancet**, n. 27, 1978.

LITTLE, C. L., SAGOO, S. K.; GILLESPIE, I. A; K. GRANT, and J. MCLAUCHLIN. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in selected retail ready-to-eat foods in the United Kingdom. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1869-1877, 2009.

MILLER, F. A., GIL, M. M., BRANDÃO, T. R. S., SILVA, C. L. M. A Microbiologia Preditiva como Instrumento da Garantia da Segurança de Produtos Alimentares. **Boletim de Biotecnologia: Avanços e Aplicações - Alimentar, Porto**, v. 78, n. 1, p. 8-12, 2004.

NICAOGÁIN, K.; O'BYRNE, C. P. The Role of Stress and Stress Adaptations in Determining the Fate of the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* in the Food Chain. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-16, 2016.

OLIVEIRA, A. P., REZENDE, C. S. M., SOLA, M. C., FEISTEL, J. C., OLIVEIRA, J. J. Microbiologia Preditiva. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico**, 2013.

**Conhecer** - Goiânia, v. 9, n. 17; p. 1909, 2013.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F., VALERO, A. Predictive Microbiology in Foods. **Predictive Microbiology in Foods**, p. 1-10, 2012.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Portaria SES nº 78/2009, de 30 de janeiro de 2009. **Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, aprova Normas para Cursos de Capacitação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação e dá outras providências**. Porto Alegre, RS.

ROCCATO, A.; UYTTENDAELE, M.; MEMBRÉ, J. Analysis of domestic refrigerator temperatures and home storage time distributions for shelf-life studies and food safety risk assessment. **Food Research International**, v. 96, p. 171-181, 2017.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p.187-194, 2012.

SANT'ANA, A. S. et al. Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 1, p. 52-58, 2012.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p.187-194, 2012.

STAVROPOULOU, E., BEZIRTZOGLU, E. Predictive Modeling of Microbial Behavior in Food. **Foods**, v.8, n. 654, 2019.

SÃO PAULO. SECRETARIA DE ESTADO CENTRO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro para inspeção**. São Paulo. Portaria CVS nº 5, de 09 de abril de 2013.

TREVEJO, Rosalie T., BARR, Margaret C. ROBINSON, Robert Ashley. Important emerging bacterial zoonotic infections affecting the immunocompromised. *Vet. Res.* V.36, p.493–506, 2005.

TURNER, K.; MOUA, C. N., HAJMEER, M.; BARNES, A.; NEEDHAM, M. Overview of Leafy Greens–Related Food Safety Incidents with a California Link: 1996 to 2016: 1996 to 2016. **Journal of Food Protection**, v. 82, n. 3, p. 405-414, 2019. International Association for Food Protection.

UYTTENDAELE, M.; FRANZ, E.; SCHLÜTER, O. Food Safety, a Global Challenge. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 1, p.1-6, 2015.



VEYS, O.; ELIAS, S. O.; SAMPERS, I.; TONDO, E. C. Modelling the Growth of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce. **Procedia Food Science**, v. 7, p. 168-172, 2016.

WADAMORI, Y.; GOONERATNE, R.; A HUSSAIN, M. Outbreaks and factors influencing microbiological contamination of fresh produce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 5, p. 1396-1403, 2016.

WHITING, R. C. Microbial modeling in foods. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, v. 35, n. 6, p.467-494, 1995.

## 5 CONCLUSÃO

O presente trabalho gerou resultados importantes sobre o cenário real da produção e distribuição da salada de alface minimamente processada ofertada para os pacientes do hospital. De forma que, demonstrou eficiência no processo a partir da análise preditiva microbiológica, uma vez que não há risco de multiplicação de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* no produto final durante os módulos identificados, quando utilizada a média das temperaturas encontradas. Apesar desse resultado, foram encontradas temperaturas acima do limite permitido pela legislação e temperaturas que, dependendo do tempo de exposição, podem favorecer a multiplicação de *E. coli*, *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*. Sendo assim, corrobora a importância da qualidade microbiológica que o alimento minimamente processado chega para o consumidor, reforçando as exigências de qualidade que devem ser feitas na escolha do fornecedor, com base na legislação que rege estes produtos.

Foi sugerida a criação de planilhas de monitoramento de temperatura de distribuição, com o objetivo de auxiliar no controle da segurança do alimento entregue aos pacientes. Ainda, estratégias para reduzir o tempo de processamento da salada de alface minimamente processada no hospital, como a redução de etapas de processamento, diminuiria as variações de temperaturas do alimento durante o processo e, por consequência, a temperatura na distribuição. O uso do resfriador na etapa de porcionamento também foi uma sugestão para melhor garantia de segurança do alimento, uma vez que os dados coletados da alface com a utilização deste equipamento apresentaram média e mediana de temperaturas abaixo de 5°C.

São necessários dados que demonstrem a qualidade microbiológica dos alimentos minimamente processados na chegada aos estabelecimentos de produção para que os resultados sejam mais fidedignos, visto que neste estudo o nível inicial dos microorganismos foi assumido como 2 log UFC/g. Também, estudos semelhantes a este podem ser realizados para analisar o cenário real dos demais alimentos que são servidos aos pacientes neste hospital, gerando resultados científicos para o gerenciamento de possíveis riscos.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, W. M. C., MONTEBELLO, N. P., BOTELHO, R. B. A., BORGIO, L. A. (Org.). **Alquimia dos Alimentos**. 3. ed. Brasília: Editora SENAC-DF, 2014.

BAUCHE, J. C.; DUPONT, H. L. New Developments in Traveler's Diarrhea. **Gastroenterology & Hepatology**, Texas, v. 7, n. 2, p.88-95, 2011.

BRANDÃO, M. L. L., BISPO, C. P., ALMEIDA, D. O., ROSAS, C. O., BRICIO, S. M. L., MARIN, V. A. *Listeria monocytogenes* em hortaliças: isolamento e sorotipagem.: isolamento e sorotipagem. **Rev Inst Adolfo Lutz**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 72, p. 117-122, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil: Informe 2019**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta---o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>>. Acesso em: 27 jan. 2020.

BUCHANAN, R. L., GORRIS, L. G. M., HAYMAN, M. M., JACKSON, T. C., WHITING, R. C. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p.1-13, 2017.

CASTRO-IBÁÑEZ, I.; GIL, M. I.; ALLENDE, A. Ready-to-eat vegetables: Current problems and potential solutions to reduce microbial risk in the production chain. **Food Science and Technology**, v. 85, p.284-292, 2017.

CARRASCO, E., PÉREZ-RODRÍGUEZ, F., VALERO, A., GARCÍA-GIMENO, R. M., ZURERA, G. Growth of *Listeria monocytogenes* on shredded, ready-to-eat iceberg lettuce. **Food Control**, v. 19, n. 5, p. 487-494, 2008.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Listeria (listeriosis): Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Packaged Salads Produced at Springfield, Ohio Dole Processing Facility (Final Update)**. 2016. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/bagged-salads-01-16/index.html>. Acesso em: 01 abr. 2020.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **E. coli (Escherichia coli): Reports of Selected E. coli Outbreak Investigations**. 2019. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html>>. Acesso em: 10 fev. 2020.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Salmonella**. 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>. Acesso em: 27 jan. 2020.

CEUPPENS, S., HESSEL, C. T., RODRIGUER, Q. R., BARTZ, S., TONDO, E. C., UYTENDAELE, H. Microbiological quality and safety assessment of lettuce production in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 181, p.67-76, 2014.

DAELMAN, J., JACXSENS, L., LAHOU, E., DEVLIEGHERE, F., UYTENDAELE, M. Assessment of the microbial safety and quality of cooked chilled foods and their production process. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, n. 3, p. 193-200, 2013.

DALL'OGGIO, I., NICÒLO, R., DI CIOMMO, V., BIANCHI, N., CILIENTO, L., GAWRONSKI, O., POMPONI, H., ROBERTI, H., TIOZZO, E., RAPONI, M. A Systematic Review of Hospital Foodservice Patient Satisfaction Studies. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 115, n. 4, p.567-584, 2015.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), SCIENTIFIC OPINION *Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU. **EFSA Journal**. n.16, p.5134, 2018.

ELIAS, S. O.; NORONHA, T. B.; TONDO, E. C. Assessment of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 growth on lettuce exposed to isothermal and non-isothermal conditions. **Food Microbiology**, v. 72, p.206-213, 2018.

EUA. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). National Outbreak Reporting System (NORS). **NORS Dashboard**. Disponível em: <<https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/>>. Acesso em: 23 maio 2018.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCIS, G. A.; THOMAS, C.; O'BEIRNE, D. The microbiological safety of minimally processed vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p.1-22, 1999.

GARCIA, P. C. T. V.; OLIVEIRA, C. R. A.; COELHO, H. D. S.; VILLAS BOAS, M. B.; BUENO, M. B. F., COSTA, R. Contaminação microbiana em vegetais minimamente processados: uma revisão. **J Health Sci Inst**. v.33, n.2, p.85-92, 2015.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos**. 5. ed. Barueri, SP: Manole, 2014.

GONÇALVES, J. M., RODRIGUES, K. L., DEMOLINER, F., ROSSALES, R., ALMEIDA, A. T. S., BUCHWEITZ, M. R. D. Hygienic and Sanitary Conditions in the Hospital Foodservice: Relationship between Good Practices and Microbiological Quality. **Journal of Food Safety**, v. 33, n. 4, p.418-422, 2013.

GROCERY MANUFACTURERS ASSOCIATION (GMA) *Listeria monocytogenes* Guidance on Environmental Monitoring and Corrective Actions in **At-risk Foods**. July, 2018.

HAPSARI, O. P.; PERMANA, I.; LISTIOWATI, E. Analysis of Hygiene and Sanitation Practice Within Hospital Foodservice Employees. a Case Study in a Private Hospital in Yogyakarta. **Journal Medicoeticolegal Dan Manajemen Rumah Sakit**, v. 7, n. 3, p.255-260, 2018.

HERMAN, K. M.; HALL, A. J.; GOULD, L. H. Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States, 1973–2012. **Epidemiol. Infect.**, p. 1-11, 2015.

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

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. Pathogenic *Escherichia Coli*. **Nature Reviews: Microbiology**, Maryland, v. 2, n. 1, p.123-140, 2004.

KIM, K.; KIM, M.; LEE, K. Assessment of foodservice quality and identification of improvement strategies using hospital foodservice quality model. **Nutrition Research and Practice**, v. 4, n. 2, p.163-172, 2010.

KYERE, E. O.; PALMER, J.; WARGENT, J. J.; FLETCHER, G. C.; FLINT, S. Colonisation of lettuce by *Listeria Monocytogenes*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 1, p. 14-24, 2018.

KOSEKI, S.; ISOBE S. Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. **International Journal of Food Microbiology**. n.104, p.239–248, 2005.

LITTLE, C. L., SAGOO, S. K.; GILLESPIE, I. A; K. GRANT, and J. MCLAUCHLIN. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in selected retail ready-to-eat foods in the United Kingdom. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 1869-1877, 2009.

LUND, B. M.; O'BRIEN, S. J. Microbiological safety of food in hospitals and other healthcare settings. **Journal of Hospital Infection**, v. 73, n. 2, p.109-120, out. 2009.

LUND, B. M.; O'BRIEN, S. J. The Occurrence and Prevention of Foodborne Disease in Vulnerable People. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 8, n. 9, p.961-973, set. 2011.

NICAOGÁIN, K.; O'BYRNE, C. P. The Role of Stress and Stress Adaptations in Determining the Fate of the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* in the Food Chain. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-16, 2016.

OLIVEIRA, A. P., REZENDE, C. S. M., SOLA, M. C., FEISTEL, J. C., OLIVEIRA, J. J. Microbiologia Preditiva. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v. 9, n. 17; p. 1909, 2013.

OLIVEIRA, M. A., SOUZA, V. M., BERGAMINI, A. M. M., MARTINIS, E. C. P. Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. **FoodControl**, v. 22, n. 8, p.1400-1403, 2011.

OKHUYSEN, P. C.; DUPONT, H. L. Enteroagregative *Escherichia coli* (EAEC): A Cause of Acute and Persistent Diarrhea of Worldwide Importance. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 4, p.503-505, 2010.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, F., VALERO, A. Predictive Microbiology in Foods. **Predictive Microbiology in Foods**, p. 1-10, 2012.

PINHEIRO, H. M. S. **Planejamento físico-funcional de unidades de alimentação e nutrição**. Rio de Janeiro: Rubio, 2012.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Portaria SES nº 90/2017, de 13 de fevereiro de 2017. **Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação e de Procedimentos Operacionais Padronizados Para A Industrialização de Frutas e Vegetais Minimamente Processados e A Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/industrializadores de Frutas e Vegetais Minimamente Processados**. Porto Alegre, RS.

ROCCATO, A.; UYTENDAELE, M.; MEMBRÉ, J. Analysis of domestic refrigerator temperatures and home storage time distributions for shelf-life studies and food safety risk assessment. *Food Research International*, v. 96, p. 171-181, 2017. Elsevier.

RODRÍGUEZ-ANGELES, M E. C. G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. **Salud Pública de México**, México, v. 44, n. 5, p.464-475, 2002.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p.187-194, 2012.

SANT'ANA, A. S. et al. Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 1, p. 52-58, 2012.

SANT'ANA, A. S.; FRANCO, B.D.G.M.; SCHAFFNER, D. W. Risk of infection with *Salmonella* and *Listeriamonocytogenes* due to consumption fready-to-eat leafy vegetables in Brazil. **Food Control**, v. 42, p.1-8, 2014.

SCHUENZEL, K. M.; HARRISON, M. A. Microbial Antagonists of Foodborne Pathogens on Fresh, Minimally Processed Vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 12, p.1909-1915, 2002.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2014.

STANGARLIN, L., SACCOL, A. L. F., SERAFIM, A. L., HECKTHEUER, L. H. **Instrumentos de apoio para implantação das boas práticas em serviços de nutrição e dietética hospitalar**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2013.

STAVROPOULOU, E., BEZIRTZOGLU, E. Predictive Modeling of Microbial Behavior in Food. **Foods**, v.8, n. 654, 2019.

STELLATO, G., STORIA, A. L., ERCOLINI, D. Bacterial biogeographical patterns in a cooking center for hospital foodservice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 193, p.99-108, 2015.

TONDO, E. C.; BARTZ, S. **Microbiologia e Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos**. 2ª ed. Porto Alegre: Sulina, 2019.

TURNER, K.; MOUA, C. N., HAJMEER, M.; BARNES, A.; NEEDHAM, M. Overview of Leafy Greens–Related Food Safety Incidents with a California Link: 1996 to 2016: 1996 to 2016. *Journal of Food Protection*, v. 82, n. 3, p. 405-414, 2019.

UYTENDAELE, M.; FRANZ, E.; SCHLÜTER, O. Food Safety, a Global Challenge. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n. 1, p.1-6, 2015.

WADAMORI, Y.; GOONERATNE, R.; A HUSSAIN, M. Outbreaks and factors influencing microbiological contamination of fresh produce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 97, n. 5, p. 1396-1403, 2016.

WHO. **Food safety**. 2019. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>>. Acesso em: 05 fev. 2020.

WHO. **Salmonella (non-typhoidal)**. 2018. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>. Acesso em: 27 jan. 2020.

WHITING, R. C. Microbial modeling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 6, p.467-494, 1995.

YANG, S. C., LIN, C. H., ALJUFFALI, I. A., FANG, J. Y. Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. **Archives of Microbiology**, v. 199, n. 6, p.811-825, 2017.