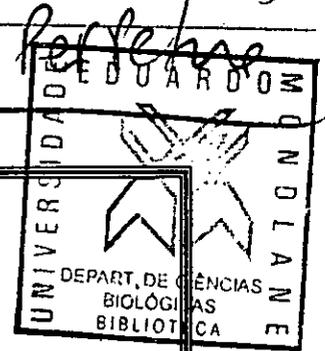


B10-235

ESP. DY. CRISTIANO



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

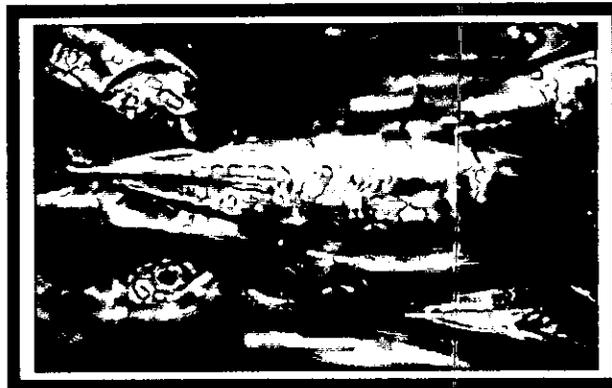
FACULDADE DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de Culminação de Curso

**IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE
CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PEIXE
CARAPAU DURANTE O SEU PROCESSAMENTO**

Estudo do caso: Serviço Universitário de Alimentação



Autora: Zita Jorge Sidumo

Maputo, Janeiro de 2008

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Trabalho de culminação do curso

**IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA
DO PEIXE CARAPAU DURANTE O SEU PROCESSAMENTO**

Estudo do caso: Serviço Universitário de Alimentação

Supervisores:

dr. Joaquim Manhique

dr. Arlindo Chauque

Co- supervisor

dr. Armando Parruque

Autora

Zita Jorge Sidumo

Maputo, Janeiro de 2008

Índice	Pág.
Dedicatória.....	i
Declaração de honra.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Lista de tabelas e Lista de abreviaturas.....	v
Resumo.....	vi
1-INTRODUÇÃO	1
1.1-Problema de estudo e justificação	1
2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 - Grupos microbiológicos	4
2.2 - Pontos de contaminação dos alimentos.....	5
2.3 - Limites críticos do tempo e temperatura na qualidade dos alimentos	6
2.4 - Métodos de análise microbiológica de alimentos	8
2.4.1- Contagem de microrganismo psicrófilos e termófilos	8
2.4.2- Contagem total de microrganismo mesófilos aeróbios	8
2.4.3- Contagem em placas.....	9
2.4.4 -Técnica do Número Mais Provável.....	9
3- OBJECTIVOS.....	10
4- HIPÓTESES.....	10
5- ÁREA DE ESTUDO.....	10
6- MATERIAIS E MÉTODOS	11
6.1- Material	11
6.2- Metodologia	13
6.3- Análises microbiológicas.....	13
6.4- Análise de dados.....	14
7- RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
7.1. DISCUSSÃO	17
8. CONCLUSÃO.....	20
9. RECOMENDAÇÕES e LIMITAÇÕES.....	21
10.BIBLIOGRAFIA	23
ANEXOS	25

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais e aos meus irmãos.

Declaração de honra

Declaro, por minha honra, que este trabalho é resultado do meu empenho e dedicação, da minha inteira responsabilidade e que a informação nele contida reflecte a minha investigação e consulta da bibliografia em anexo.

Zita Jorge Sidumo

(Zita Jorge Sidumo)

Maputo, Dezembro de 2007

Agradecimentos

Agradeço com sinceridade, a todos que contribuíram directa ou indirectamente para a realização deste trabalho, que para mim simboliza o fim de uma grande batalha travada durante 4 anos. Agradeço em especial:

Aos meus supervisores, o doutor Joaquim Manhique, doutor Armando parruque pelo apoio e atenção . Ao doutor Arlindo Chaúque por todo apoio prestado durante a realização deste trabalho;

Ao pessoal do SELF, pela hospitalidade, em particular ao doutor Ilídio Manjate e doutor David Monteiro pela paciência.

Ao pessoal do Laboratório Nacional de Águas e Alimentos (MISAU) pelo apoio nas análises laboratoriais.

Aos meus colegas e amigos: Delfina Muiocha, Emelva Manhiça, Mariamo Machado, Nídia Cangi, Nelson Tembe, Quitéria Manuel e Sónia Ventura. E também á engenheira Amélia Sidumo e ao Antero Mhula, por todo apoio moral a que me dedicaram durante todos os anos de faculdade.

A todos, muito obrigado

Lista de tabelas e figuras

- 1- Temperatura óptima de algumas bactérias implicadas na contaminação alimentar
- 2 – limites máximos permitidos dos índices microbiológicos
- 3 – Comparação das médias (análises de amostras dos locais de processamento do peixe).

Figura 1- Relação entre a quantidade de bactérias presente na amostra de peixe retirada de cada ponto

Figura 2; Número médio de colónias por grupo microbiológico observado nas amostras dos locais em cada etapa de processamento do peixe carapau no Self Service

Lista de abreviaturas

APPCC – Análise de perigo e pontos críticos de controlo

BVB – Caldo de verde bilis

C.totais – Coliformes totais

C.fecais – Coliformes fecais

E.Coli – *Escherichia coli*

LNHAA – Laboratório Nacional de Higiene de Água e Alimento

LBEM – Endo agar

MISAU – Ministério de Saúde

NMP – Técnica do número mais prováveis

PCA – Plate count agar

S.aureus – *Staphylococcus aureus*

Ufc- unidade formadora de colónias

RESUMO

Os estabelecimentos de restauração têm sido frequentemente associados a surtos de infecções alimentares. De modo a reduzir a incidência de tais surtos, a contaminação de alimentos por perigos microbiológicos como a *Escherichia coli*, *Salmonella*, e outros deve ser prevenida, reduzida ou eliminada. Isso poderá ser atingido através da implementação de práticas de segurança alimentar eficazes. Os programas de segurança alimentar podem ser subdivididos em Pré-requisitos como a manutenção, limpeza, higiene pessoal, etc., e Análise de Perigos e Pontos de Controlo Críticos.

Este trabalho teve como objectivo geral identificar possíveis pontos de contaminação do peixe carapau durante o seu processamento no Serviço Universitário de alimentação-SELF e avaliar o grau de contaminação num ponto em relação aos outros.

O trabalho foi efectuado seguindo a um protocolo de pesquisa.

Foram efectuadas visitas ao local de estudo com o objectivo de conhecer os pontos pelos quais o alimento passa durante o processamento até ao momento da confecção, que medidas de higiene são tomadas neste local, no âmbito da preparação dos alimentos.

As amostras foram colhidas de forma aleatória em 3 locais por onde o peixe passa, antes da preparação final para o consumo, e destes locais foi feito zaragatoas. Foram colhidas 56 amostras.

As amostras foram analisadas no laboratório nacional de higiene de água e alimentos (LNHAA) segundo as técnicas e métodos adoptados por este laboratório. Fez-se análise dos dados obtidos da qual se constatou que os níveis de contaminação nos momentos anteriores á manipulação são microbiologicamente aceitáveis segundo os limites recomendados pelo laboratório mas, após o passagem pela bancada de manuseamento verifica-se um aumento na contagem de colónias bacterianas e pela análise estatística foi possível ver que houve diferença significativa entre a quantidade de bactérias que ocorrem nas mãos dos manipuladores e na bancada de manuseamento em relação ao

carro de transporte e ao armazenamento frigorífico. Os resultados sugerem que o manuseamento é a etapa na qual o nível de higiene é menor e que não há um sistema de controlo microbiológico regular na área de manipulação dos alimentos no Serviço de Alimentação da Universidade Eduardo Mondlane .

1-INTRODUÇÃO

A qualidade higiênico-sanitária de uma refeição depende, em grande parte, dos cuidados que se tem, com os alimentos durante o seu processamento: transporte, armazenamento, conservação, confecção e distribuição ao consumidor. Durante o processamento existem riscos de contaminação, presença não intencional de qualquer material estranho nos alimentos, que constituem perigos alimentares, que são qualquer propriedade biológica, física ou química, que possa tornar um alimento prejudicial para consumo humano (Fernandes, 2003).

A contaminação dos alimentos por microrganismos frequentemente leva ao aparecimento de toxinfecções alimentares quando estes são ingeridos em grande número ou quando as suas toxinas estão presentes nos alimentos, e as toxinfecções alimentares são uma das principais preocupações ao nível da Saúde Pública (Guzman, 1998).

A contaminação de alimentos pode ser por bactérias, fungos, vírus, toxinas microbianas e outros parasitas. Estes organismos vivem e desenvolvem-se nos manipuladores, outros ocorrem naturalmente no ambiente onde os alimentos são produzidos, e podem ainda ocorrer nos locais de armazenamento, conservação e de manuseamento, e estes constituem os pontos em que se podem aplicar medidas de controlo de modo a eliminar, prevenir ou reduzir a contaminação à níveis aceitáveis (Silva, 2006).

1.1-Problema de estudo e justificação

Toxinfecções alimentares são uma das mais significativas causas de morbi-mortalidade em países desenvolvidos e em desenvolvimento. A maioria é causada por agentes desconhecidos e, apesar dos avanços na identificação de novos agentes, existem dificuldades epidemiológicas em implicar o alimento ou a água como veículos da contaminação em muitas situações.

A transmissão interpessoal também pode ser responsável pela contaminação, e as pessoas só procuram as unidades sanitárias quando as manifestações são clinicamente sintomáticas, sendo que nesta fase na maioria dos casos já se torna difícil reverter a situação podendo se verificar infecções crónicas como úlceras estomacais, gastrites e em casos mais graves levar a morte (MISAU, 1984).

Estes perigos alimentares são mais comuns quando se trata de alimentos processados e consumidos em locais públicos como o exemplo de refeitórios, lanchonetes, restaurantes e em particular alimentos de origem animal, as carnes e em especial o peixe que é usualmente conservado a frio, por ser muito susceptível a contaminação e facilmente putrescível. Estes alimentos constituem um bom meio de cultura para o crescimento de bactérias (Silva, 2006).

A identificação dos pontos críticos de contaminação no processamento deste alimento poderá contribuir para o melhoramento dos cuidados a tomar com os alimentos no geral e durante todos os processos que envolvem a preparação destes, de modo que os mesmos não fiquem contaminados e não causem problemas de saúde ao consumidor.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A qualidade microbiológica de produtos pesqueiros depende de vários factores como a natureza do produto, os processos de tratamento a que foram submetidos, as condições sanitárias do ambiente e do processamento pelas indústrias e restauração, o tipo de temperatura a que foram armazenados, o tempo de estocagem, tipos e estágios de crescimento dos microorganismos presentes, velocidade de descongelamento (Reddy *et al.*, 1994 citados por Stori, 2000).

O músculo do pescado fresco é susceptível a deterioração devido aos processos enzimáticos e actividade microbiana (Stori, 2000). O efeito da actividade enzimática e microbiana nas proteínas do pescado é um pronunciado mau odor que reduz a vida útil do produto. Paralelamente a isto, as características de sabor e textura são alteradas (Pereira, 1997).

A proliferação de microorganismos acelera a produção de diversos metabólitos que afectam o sabor, odor e textura, como: amônia, aminas, indol e histamina (Pereira, 1997 e Stori, 2000). Contudo, muitas vezes o alimento contaminado não apresenta qualquer alteração (MISAU, 1984).

2.1 - Grupos microbiológicos

Há bactérias comensais do intestino do homem e de animais. Os mais comuns são: *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* e *Clostridium perfringes*, sendo excretados juntamente com as fezes. A sua presença indica a contaminação dos alimentos por matérias fecais, constituindo um grupo

denominado por coliformes fecais. A *Escherichia coli* representa 95% deste grupo. Por outro lado há coliformes que têm a capacidade de fermentar a lactose e produzir gás e ácido láctico, esses são chamados coliformes totais. A sua presença, nos alimentos, sugere más condições ou más práticas higiénico – sanitárias durante o processamento ou estocagem (armazenamento) (Franco, 2003).

a) Coliformes totais

Este grupo é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, sendo algumas capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35 – 37°C, por 48 horas. São bacilos gram-negativos e não formadores de esporos (Franco, 2003).

b) Coliformes fecais

As bactérias pertencentes a este grupo correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubadas a temperaturas de 44 – 45°C. O uso de *Escherichia coli* como um indicador de contaminação de origem fecal foi proposto em 1892 por Teobaldo Smith, uma vez que esse microrganismo é encontrado no conteúdo intestinal do homem e animais homeotérmicos (Franco, 2003).

c) Bactérias aeróbicas mesófilas

Estas bactérias como o exemplo de *Staphylococcus aureus*, crescem a uma temperatura que varia entre 30 – 37°C, sua presença nos alimentos pode significar uma carga microbiana originária ou contaminação ambiental (Rodrigues, 2004).

d) Bactérias psicrotróficas

São as bactérias que crescem rapidamente nos alimentos à temperaturas de refrigeração. Muitas destas quando presentes em grande número nos alimentos podem causar o aparecimento de odor desagradável, alterações na textura e sabor (MISAU, 1984).

2.2 - Pontos de contaminação dos alimentos

Um ponto de controlo é onde se pode aplicar controlo com o objectivo de prevenir, eliminar e ou reduzir o perigo de contaminação relevante a níveis aceitáveis (MISAU, 1983). vide anexo 1. Dos

pontos a considerar, que constituem fases nas quais a contaminação dos alimentos pode ocorrer, inclui-se: o transporte, armazenamento e conservação e o manuseamento.

Do consumo de alimentos contaminados resultam várias doenças, como o exemplo das que se seguem:

a) Gastroenterite por Salmonella e Febre Tifóide

A gastroenterite por Salmonella é uma intoxicação causada pela bactéria do género Salmonella. A incidência da doença é sazonal: o maior número dos casos ocorre durante o verão. Isto se deve, provavelmente, à maior multiplicação da bactéria em alimentos a temperaturas elevadas. A febre tifóide é uma infecção causada de por um serotipo específico, a *Salmonella typhi* (Pelczar *et al.*, 1997). Os seres humanos são infectados por salmonelas quase exclusivamente devido ao consumo de água e alimentos contaminados. Seres humanos assintomáticos podem disseminar salmonelas para outros semelhantes ao excretá-las nas fezes e contaminar as mãos (Pelczar *et al.*, 1997).

Se indivíduos com as mãos contaminadas estão envolvidos na preparação de alimentos, eles podem inocular as salmonelas. Se o alimento for armazenado em local não refrigerado por muitas horas, a bactéria pode multiplicar-se, alcançando número suficiente para causar doença naqueles que a ingerirem (Fernandes, 2003 e Rodrigues, 2004).

b) Intoxicação alimentar estafilocócica

A intoxicação alimentar estafilocócica, causada pelo *Staphylococcus aureus*, é um dos tipos de intoxicação alimentar mais comum. Portadores humanos de *S. aureus* enterotoxigénico são responsáveis pela contaminação: eles são assintomáticos mas apresentam o estafilococo como flora normal, principalmente no nariz. Entretanto, o portador pode apresentar lesões evidentes nas mãos causadas por estafilococos, tais como furúnculos (Pelczar *et al.*, 1997). Segundo estes autores, as situações que levam à intoxicação alimentar estafilocócica normalmente são:

1. As mãos do portador ficam contaminadas com secreções nasais;
2. As mãos do portador inoculam o microorganismo no alimento durante a preparação;
3. O alimento é conservado durante muitas horas sem refrigeração adequada. Durante esse período, o estafilococo multiplica-se e produz a enterotoxina;

4. O alimento pode ser consumido cru ou cozido. O cozimento não destrói a enterotoxina, já que esta é termostável, mantendo-se activa após fervura por 30 minutos ou mais (Leaderer, 1991).

Os alimentos mais envolvidos neste tipo de intoxicação são derivados de leite, carnes processadas entre outros. Os sintomas aparecem 1 a 6 horas após o consumo do alimento contaminado e incluem náusea, vômito e diarreia moderada, normalmente sem febre. Os sintomas desaparecem em menos de 12 horas e, embora muito desagradáveis, a doença raramente é fatal (Pelczar *et al.*, 1997 e Fernandes, 2003).

2.3- Limites críticos do tempo e temperatura na qualidade dos alimentos

A temperatura de armazenamento tem um papel importante na manutenção da qualidade do produto, recomendando-se valores abaixo de -18°C (Rosivalli e Baker, 1981 citados por Pereira, 1997). Nesta temperatura, o crescimento microbiano é inibido, mas algumas reacções químicas prosseguem a uma menor velocidade. Assim, quanto menor a temperatura, maior é o tempo de estocagem (Pereira, 1997).

Um exemplo para a restauração, é o facto da cozedura dever atingir no interior dos alimentos uma temperatura adequada e durante o tempo necessário para garantir a destruição de bactérias patogénicas como o *E. coli* O157. Isto é possível confeccionando a pelo menos 70°C (temperatura no centro do alimento) no mínimo de 2 minutos. Se este limite crítico não for atingido, a destruição de *E. coli* O157 não pode ser assegurada (Oliveira *et al.*, 2000).

Segundo Silva, 1999 a temperatura adequada para a conservação por refrigeração deve estar abaixo dos 4°C . A mais baixa temperatura a qual se verificou multiplicação microbiana é de -34°C e a mais alta é a volta dos 90°C . Também a atmosfera onde os alimentos são conservados é muito importante, considerando-se atmosferas controladas ou modificadas quando existam concentrações de dióxido de carbono á volta dos 10%, com o uso destas atmosferas para aumentar o período de conservação de carnes, são inibidas bactérias Gram- negativas e passam a dominar os *Lactobacillus*, e para o peixe esta atmosfera é eficaz (Ferreira, 1998).

A tabela nº 1 resume a temperatura óptima de algumas bactérias implicadas na contaminação alimentar segundo Silva (2006).

Perigos microbiológicos	Temperatura	
	Mínima	Máxima
<i>Yersinia enterocolitica</i>	- 1	42
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	45
<i>Salmonella</i>	5	47
<i>Bacillus cereus</i>	5	55
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	48
<i>Vibrio cholerae</i>	10	43
<i>Clostridium perfringens</i>	12	50

Fonte: FDA, 2001; ICMSF, 1980; ICMSF; (Silva, 2006).

O peixe está sujeito a processos variados de deterioração, envolvendo a actividade de microorganismos presentes na sua superfície, guelras e trato intestinal (Leitão, 1988).

Durante o manuseio, facilmente pode ocorrer contaminação do produto por microorganismos, tanto os responsáveis pelas doenças e infecções, como os que podem se multiplicar em baixas temperaturas e induzir alterações acima referidas (Leitão, 1976 citado por Pereira, 1997).

Para que haja desenvolvimento e multiplicação, é necessário que no meio se encontrem elementos nutritivos e condições físico – químicas favoráveis aos microorganismos tais como: oxigénio, pH óptimo (para a maioria de bactérias varia entre 5 e 8), humidade (as bactérias necessitam de água para os processos biossintéticos) e temperatura (à medida que a temperatura diminui, o desenvolvimento dos microorganismos torna-se lento (Silva, 1999).

O peixe apresenta uma microflora natural, relativamente uniforme, composta principalmente por bactérias psicrófilas e psicrotróficas que agem a temperaturas do refrigerador, entre as quais destacam-se: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*, apesar de apresentar uma temperatura óptima entre 20 e 37°C. Há um desenvolvimento selectivo de algumas bactérias, principalmente do género *Pseudomonas* e *Alteromonas*, capazes de rápida utilização de aminoácidos e conseqüente alteração pronunciada de odor (Pereira, 1997).

A tabela abaixo apresenta indicadores de contaminação e os limites máximos permitidos de contaminação para pescados marinhos e seus produtos, usados em vários países:

Tabela nº 2 – limites máximos permitidos dos indicadores de contaminação

Pescado e produtos	Salmonella (ausência em)	Coliformes fecais (NMP máximo)	Staphylococcus (ufc máximo)
In natura	25 gramas	10 ² por grama	10 ³ por grama
Cru e congelado	25 gramas	10 ² por grama	10 ³ por grama
Seco/salgado	25 gramas	10 ² por grama	10 ³ por grama
Defumado	25 gramas	10 ² por grama	10 ³ por grama
Pré-cozido/empanado	25 gramas	10 ² por grama	10 ³ por grama

Fonte: FDA, 2001; ICMSF, 1980; ICMSF; (Silva, 2006).

No entanto, no nosso país, para o peixe são usados como indicadores de contaminação coliformes fecais, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e os limites máximos permitidos de contaminação são estabelecidos pelo MISAU-LNHAA, anexo 1 (Fernandes, 2003).

As bactérias descritas na tabela nº 1 podem estar implicadas na ocorrência de doenças e infecções transmitidas pelos alimentos como a cólera, disenteria bacilar, febre tifóide, febre paratifoide, gastroenterites e diarreia infantil (FAO & WHO, 1993). Define-se *intoxicação alimentar* ao conjunto de sinais e sintomas decorrentes da ingestão de uma toxina microbiana acumulada num determinado alimento.

Infecção alimentar, ao contrário da intoxicação, refere-se ao conjunto de sinais e sintomas decorrentes da ingestão de microorganismos que se multiplicaram dentro do paciente (Fernandes, 2003).

2.4 - Métodos de análise microbiológica de alimentos

No estudo dos métodos de análise microbiológica de alimentos, a obtenção correcta das amostras, seu transporte para laboratório e sua preparação para análise são etapas fundamentais para o sucesso

da análise. Da execução correcta dessas três etapas depende a exactidão dos resultados obtidos (Franco, 2003).

A primeira etapa é a da amostragem onde no momento da obtenção de uma amostra para análise, todas as precauções devem ser tomadas para que a amostra obtida seja representativa do produto como um todo. Como regra geral, toda amostra deve ser analisada até 36 horas após sua obtenção (Franco, 2003).

A segunda etapa é a preparação da amostragem, onde técnicas correctas de preparação de uma amostra para análise são indispensáveis. Técnicas assépticas devem ser utilizadas em todas as etapas. Uma vez que a distribuição dos microrganismos nos alimentos não é uniforme, uma homogeneização prévia de toda a amostra é indispensável. A escolha do diluente para homogeneização depende do tipo de produto e dos microrganismos a serem pesquisados (Franco, 2003).

2.4.1- Contagem de microrganismos psicrófilos e termófilos

Essas contagens avaliam o grau de deterioração de alimentos refrigerados ou daqueles submetidos a tratamento térmico (Franco, 2003).

2.4.2- Contagem total de microrganismo mesófilos aeróbios

Esta contagem detecta, num alimento, o número de bactérias aeróbias e/ou facultativa e mesófilas (35 - 37° C), presentes tanto sob a forma vegetativa quanto esporulada (Cunha, 2006).

O número de microrganismo aeróbios e mesófilos (contagem em placa) encontrado em um alimento tem sido um dos indicadores microbiológicos da qualidade dos alimentos mais comumente utilizados, indicando se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura durante o processo de tratamento, transporte e armazenamento foram realizados de forma adequada. Esta determinação permite também obter informação referente a alteração incipiente dos alimentos, sua provável vida útil, e a falta de controlo no descongelamento dos alimentos ou desvios na temperatura de refrigeração estabelecida (Franco, 2003).

2.4.3- Contagem em placas

O método de contagem de microrganismos em placas é um método geral, que pode ser utilizado para contagem de grandes grupos microbianos, como aeróbios, mesófilos, aeróbios psicrófilos, termófilos, etc variando o tipo de meio, a temperatura e o tempo de incubação (Franco, 2003).

Por este método, amostras de alimentos são homogeneizada, diluídas em séries, em diluente apropriado, plaqueadas com ou sobre um meio de ágar apropriado e incubadas, após o que todas as colônias visíveis são contadas o procedimento se baseia na premissa de que cada célula presente em uma amostra irá formar uma colônia separada e visível, quando fixada com meio que lhe permita crescer (Franco, 2003).

2.4.4 -Técnica do Número Mais Provável

A técnica do Número Mais Provável, também chamada de técnica dos tubos múltiplos, é outra maneira bastante utilizada pelos laboratórios de microbiologia de alimentos para estimar a contagem de alguns tipos de microrganismos, como coliformes fecais, coliformes totais, *E.coli* e *Staphylococcus aureus* (Franco, 2003).

Na técnica do Número Mais Provável, o produto a ser analisado, após homogeneização, é submetido a pelo menos três diluições decimais seriadas. De cada uma dessas diluições, alíquotas iguais são transferidas para três ou para cinco tubos contendo o meio de cultura escolhido e um tubo colector de gás (tubo de Durhan). Todos os tubos são incubados, e em seguida, os positivos são identificados. Pelo número de tubos positivos em cada uma das diluições empregada determina-se o Número Mais Provável por grama de produto (Franco, 2003).

O número mais provável (NMP) é estimado de respostas onde resultados são relatados como positivo e negativo em uma ou mais diluições decimais da amostra. Por esta técnica pode-se obter informações sobre a população presuntiva de coliformes (teste presuntivo), sobre a população real de coliformes (teste confirmativo) e sobre a população de coliformes de origem fecal (coliformes fecais) (Franco, 2003).

3 -OBJECTIVOS

Para orientação na prossecução do trabalho idealizado, foram propostos os seguintes objectivos e hipóteses

a) Geral:

Identificar pontos de contaminação microbiológica do peixe carapau durante seu processamento no serviço de alimentação da Universidade Eduardo Mondlane.

b) Específicos:

- Identificar a etapa de processamento na qual pode ocorrer a contaminação;
- Identificar o ponto de processamento do peixe no qual o nível de higiene seja menor;

4 -HIPÓTESES:

H₀- O peixe carapau é contaminado durante o seu manuseamento na restauração ;

H₁- O peixe carapau não é contaminado durante o processo de manuseamento na restauração.

5- ÁREA DE ESTUDO (Caracterização)

Esta pesquisa foi efectuada no Self Service, restaurante universitário da UEM, sito na Cidade de Maputo, avenida Amílcar Cabral nº 1254. O restaurante possui um corredor situado entre o refeitório e as retretes destinadas aos trabalhadores do serviço alimentar. Este corredor une o local de recepção dos alimentos (passeio frontal do restaurante) e o local de pré – preparo (junto às duas câmaras de frio, nomeadamente, o refrigerador e congelador).

O serviço possui dois compartimentos de conservação: um de cereais e frutas e outro para produtos de prateleira como óleo alimentar e caldos. No refrigerador são estocados os legumes, nomeadamente, tomate, cenoura, pepino, pimenta e por vezes as frutas como maçã. O congelador está destinado à estocagem de alimentos de origem animal estocados ao congelamento, como pescado e carnes, principalmente a bovina.

O refeitório possui uma capacidade de 64 lugares (16 mesas de 4 lugares). O acesso a este ponto é efectuado por um corredor - bancada de distribuição das refeições com duas saídas: uma para a cozinha e outra para o exterior. O assoalho em todos locais descritos acima é feito de betão, à excepção do refeitório que possui parquetes.

A cozinha está equipada de um fogão, forno, panelas - caldeiras, Serrotes todos eléctricos. O ponto de pré - preparo e preparo possui mesas de inox para o retalho das carnes e pescado. Os legumes são preparados em utensílios de material diverso, desde plásticos de polietileno até inox. Os alimentos prontos a servir são colocados em covetes de inox cobertos de material tipo isoterma.

O efectivo encarregue pelo serviço trabalha em turnos de 14 servidores cada. O vestuário protector existente é obsoleto e insuficiente para os turnos. A limpeza e desinfecção são feitas à base do sabão líquido, desengordurador, raramente hipoclorito de sódio (Sr.Martins Dlavane, comunicação pessoal).

6- MATERIAIS E MÉTODOS

6.1- Material

a) Material para a colheita das amostras

Zaragatoas

Suportes para tubos

Tesouras

Sacos plásticos

Colemann

Etiquetas

Espátulas

Tubos de ensaio

Algodão

b) Equipamentos

Estufa

Geleira

Autoclave

Misturador vortex (agitador)

Bico de bunsen

Banho-Maria a 45°C

Balança analítica

Incubador a 37°C

Incubador a 44°C

Agitador magnético

c) Meios e reagentes

Agar MaCconcky

Água peptonada tamponada 0.1%

Álcool a 70%

Solução KOH 40%

Caldo Lauryl triptose

Caldo Bilis Verde Brilhante

Nutriente Agar

Caldo Ringel

Indicador vermelho de Metil

Água oxigenada

Bacteriological peptone

d) Material de laboratório

Placas de petri (vidro) 15×100mm

Tubos de ensaio (20×200mm) e (16×160mm)

Pipetas graduadas de 1.0ml

Pipetas graduadas de 10ml

Pipetas de Pasteur

Conta gotas

6.2- Metodologia

a) AMOSTRAGEM

A amostragem foi feita entre o mês de Setembro e Novembro de 2007, numa frequência quinzenal, consistindo em zaragoas de substrato e de peixe carapau em 4 pontos, nomeadamente, o carro – transportador (ponto 1), no congelador ou armazenamento (ponto 2), nas bancadas de retalho (ponto 3) e nas mãos dos manipuladores (ponto 4). Em cada ponto foram colhidas 4 amostras de cada vez, totalizando 8 de zaragoas e 8 de peixe carapau.

Para estes procedimentos, foi observada a assépsia dos materiais (zaragoas e plásticos estéreis). As amostras de peixe eram colhidas com uso de uma faca e tesoura e colocadas nos plásticos, as zaragoas eram colocadas em tubos de ensaio contendo caldo Ringel e tapadas com algodão, e todas amostras eram rapidamente levadas num coleman para o laboratório do LNHA do MISAU. Contudo, nem sempre era possível processar as amostras após a recepção. Para minimizar o desenvolvimento microbiano pós recolha, as amostras eram armazenadas em refrigeração (temperaturas que variavam de 4 a 8°C).

6.3 - Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram efectuadas de acordo com a metodologia recomendada pelo LNAA (1997) disponível no MISAU, dentre as quais, contagem padrão das bactérias aeróbicas mesófilas (contagem de *Staphylococcus aureus*), NMP de coliformes fecais, NMP de coliformes totais, e *Escherichia coli*.

Contagem de Bactérias Aeróbicas Mesófilas

Pesou-se assepticamente 10g de amostra (peixe) ou retirou-se 10ml para um frasco contendo 90ml de água peptonada 0.1%, de acordo com a natureza da amostra (peixe ou zaragatoa em caldo de Ringel), fez-se a sua homogenização e 3 diluições.

Preparou-se 2 placas de petri esterilizadas para a amostra de peixe e 2 para a zaragatoa;

De cada diluição tirou-se assepticamente com uma pipeta estéril 1ml e deitou-se na placa de petri correspondente;

Deitou-se 12ml meio fundido (PCA – caldo de agar) e arrefecido a 45°C, mexendo a placa rotativamente para dispersar uniformemente o inóculo no meio. Depois da solidificação, incubou-se as placas invertidas a 37°C, durante 48 horas. Após a incubação contou-se as colónias das placas com a conta colónias, não se considerou as placas que apresentaram zonas de crescimento em profundidade.

Pesquisas de colónias fecais

Pesquisa de *Escherichia coli*

A pesquisa de *E.coli* fez-se a partir dos tubos positivos de BVB -caldo de bÍlis verde brilhante 2% da prova de coliformes fecais. Com ansa de platina transferiu-se o inóculo de tubo positivo de BVB para a placa de L-BEM agar (ou endo agar), fazendo estrias para se obterem colónias isoladas. Incubou-se as placas invertidas a 37°C /24 horas.

Depois da incubação, verificou-se a existência de colónias típicas de *Escherichia coli* (colónias nucleadas com o centro escuro com ou sem brilho metálico).

Passou-se cerca de duas colónias típicas com ansa de platina para uma placa de nutriente agar ou PCA, fazendo estrias. Incubou-se a 37°C por 24 horas.

Estes são os métodos usados no LNHA para a pesquisa de indicadores de contaminação do peixe.

Dados colhidos:

- Tipo de microorganismo presente em cada amostra;
- Número mais provável de colónias de bactérias por grama do peixe.

6.4- Análise de dados

Calculou-se a média do número dos microorganismos presentes, para cada tipo de amostra (peixe retirado de cada ponto), a partir do número de amostras colhidas para cada amostragem.

Para avaliar o grau de diferença no nível de higiene de cada ponto de processamento por onde o peixe passa, e associar à quantidade (contagem total- NMP) de bactérias encontradas no peixe retirado após passar por cada local, foi feita análise de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste T de Student, a um nível de significância de 5%, pelo pacote estatístico SAS.

7- RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico abaixo mostra que nas amostras do peixe retirado da bancada de manuseamento houve uma contagem média maior de bactérias relativamente aos outros pontos, anexo 3.

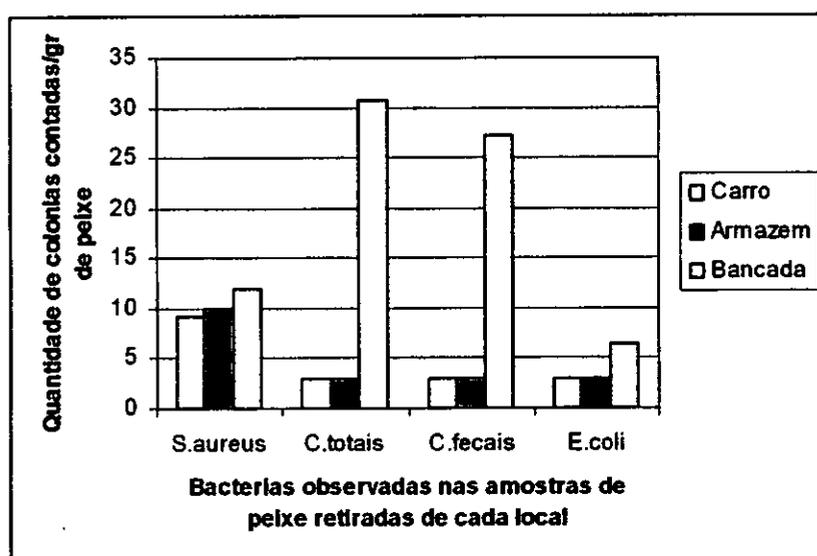


Figura 1. Relação entre a quantidade média de bactérias presente nas amostras de peixe retirada de cada ponto (local).

Resultados das análises dos locais (pontos) por onde o peixe passa (zaragatoas)

Staphylococcus aureus

De uma maneira geral o *Staphylococcus aureus* ocorre em todos pontos por onde passa o peixe carapau. As bancadas e as mãos dos manipuladores apresentam maior ocorrência de bactérias, a análise estatística mostra não haver diferença significativa na ocorrência de *S.aureus* no armazenamento frigorífico, bancada e mãos mas há diferença na ocorrência desta bactéria no carro de transporte em relação aos 3 pontos acima referidos (tabela 3). No entanto a figura nº 2 mostra que

há um crescimento assinalável deste grupo microbiológico no armazenamento frigorífico em relação às outras bactérias.

Coliformes totais

À semelhança de *S. aureus*, os coliformes totais também ocorrem em todos os locais, sendo a maior ocorrência nas mãos dos manipuladores (figura 2). Na tabela 3, verifica-se que há diferença significativa na ocorrência deste grupo nas mãos em relação ao carro, bancada e armazenamento frigorífico.

Coliformes fecais

Os resultados sugerem que os fornecedores têm algum controlo para os coliformes fecais. Ao nível do restaurante universitário o peixe é contaminado durante o manuseamento o que é evidenciado pela presença elevada deste grupo microbiológico no peixe retirado da bancada de manuseamento (figura 1).

Escherichia coli

Esta bactéria ocorre em todos os pontos, porém em quantidades significativamente inferiores em relação aos outros grupos microbiológicos, não havendo também diferença estatisticamente significativa de sua ocorrência em todos os locais (pontos) (tabela 3).

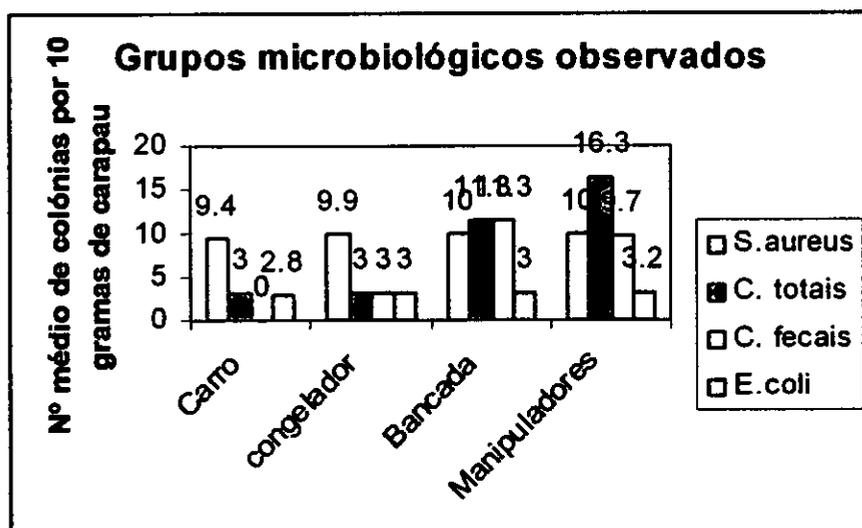


Figura nº 2 – Número médio de bactérias observado nas amostras dos pontos de processamento do peixe carapau no Self Service.

Tabela 3. Comparação das médias (análises de amostras de zaragoas feitas dos pontos de processamento do peixe).

Ponto	<i>S. aureus</i>	<i>C. totais</i>	<i>C. fecais</i>	<i>E. coli</i>
Carro	9.4 ± 0.32 b	3.0 ± 0.00 b	0.0 ± 0.00 c	2.8 ± 0.70 a
Armazém	9.9 ± 0.00 a	3.0 ± 0.00 b	3 ± 0.00 bc	3.0 ± 0.00 a
Bancada	10 ± 0.48 a	11.3 ± 9.9 ab	11.3 ± 9.93 a	3.0 ± 0.21 a
Mãos	10 ± 0.00 a	16.3 ± 9.4 a	9.7 ± 8.6 ab	3.2 ± 0.28 a

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna, significa que a contaminação pelo respectivo perigo microbiológico não é significativamente diferente.

As letras a, b e c correspondem à categorias de comparação das médias e os números a direita o desvio padrão.

7.1. DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode – se verificar que o peixe retirado da bancada de manuseamento possui maior contagem de bactérias (número de colónias observadas) em relação ao retirado do armazenamento e do camião transportador. Das duas amostragens feitas verifica – se que no geral a contagem de bactérias nas amostras de peixe retiradas da bancada de manuseamento é consideravelmente maior em relação ao retirado do armazenamento e em relação ao peixe retirado do carro transportador (figura 1).

Deste modo e, com a sustentação de que nas análises de zaragoas feitas das mãos dos manipuladores existe maior número de bactérias (NMP) em relação aos outros locais pode-se concluir que o ponto no qual o nível de higiene é mais baixo é a bancada de manuseamento. Do inquérito feito foi possível apurar que este facto está certamente associado a factores que levam á adição das bactérias ao peixe durante o manuseamento uma vez que algumas destas já estavam presentes no peixe retirado do carro e do armazenamento frigorífico, mas em número menor. Estes factores são, a falta de hábitos adequados de higiene por parte dos manipuladores como a lavagem correcta das mãos, bem como a falta de materiais apropriados para limpeza e desinfecção das mesmas, da bancada de manuseamento e preparação dos alimentos, falta de luvas e outros (vide anexo 2).

Freedland *et al.*, (2003) observou que as dietas alimentares contaminadas com *Escherichia coli* ou com *Staphylococcus* sp. foram aquelas submetidas a uma maior manipulação, pois continham maior

número de ingredientes para mistura. Nessa situação, a contaminação pode ser atribuída tanto aos ingredientes utilizados quanto às práticas inadequadas de manipulação. Uma taxa de 30% a 90% de contaminação em sistemas de alimentação está normalmente associada à falta de atenção dos manipuladores para com as técnicas de higiene adequadas, à inabilidade para sanitizar equipamentos de preparação e aos ingredientes aditivos não estéreis ou contaminados adicionados aos alimentos.

A análise estatística dos resultados a partir do teste T de Student para a comparação de médias mostra não haver diferença significativa entre a contaminação de todos os pontos (locais) por *Escherichia coli*. no entanto, há diferença significativa ($p < 0.05$) na contaminação das mãos e da bancada por coliformes totais e fecais e significa contaminação fecal das mãos, sendo que estas por entrarem em contacto directo com o peixe na bancada de manuseamento, passam a bactéria para o mesmo. Embora *Escherichia coli* faça parte do grupo de coliformes fecais, esta é tratada em particular pois, apenas a sua presença nos alimentos já indica possível presença de enteropatogénicos (Silva, 2006).

A contagem média de *Staphylococcus aureus* foi relativamente elevada nas zaragatoas das mãos, bancadas bem como no local de armazenamento (frigorífico) e a contagem no carro foi significativamente menor. Em paralelo a contagem média do mesmo microorganismo para as amostras do peixe retirado da bancada foi maior (11.875), seguido do armazenamento (9.875) e do carro transportador (9.125), talvez porque a temperatura de conservação do peixe no armazenamento frigorífico não é controlada, e os manipuladores podem passar esta bactéria para o peixe, uma vez que durante o processo de manuseamento estes não usam luvas.

Lisboa (1997) constatou uma grande variação na contaminação de manipuladores, utensílios e superfícies de processamento de alimentos por bactérias Gram – negativas em ambiente de cozinha, onde cerca de 80% dos contaminantes pertenciam à família *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* sp., e *Escherichia coli*. Nas condições geralmente adoptadas do tempo e temperatura de administração, *Escherichia coli* pode apresentar um tempo de geração entre 24 e 34 minutos, alcançando números elevados, mesmo que a contaminação inicial tenha sido baixa (Lisboa, 1997).

Deste modo, a presença de *Escherichia coli* (E.coli) nas amostras analisadas constitui um perigo, uma vez que o procedimento posterior adoptado para este alimento por este serviço de alimentação é a fritura e esta, não garante que a temperatura no interior do alimento seja adequada para eliminar certas estirpes deste microorganismo. A cozedura deve atingir no interior dos alimentos uma

temperatura adequada e durante o tempo necessário para garantir a destruição da *E.coli* por exemplo, a destruição de *E. coli* O157 só é possível confeccionando a pelo menos 70°C (temperatura no centro do alimento) no mínimo de 2 minutos (Boulos *et al.*, 1999).

Para além destes microorganismos, segundo Eley (1996) citado por Cuamba (2006), muitas outras espécies patogénicas podem contaminar o peixe e se medidas adequadas de higiene no transporte, conservação e manipulação não forem observadas, este pode a curto, médio ou longo prazo causar problemas de saúde ao consumidor.

8. CONCLUSÃO

- A partir dos resultados obtidos das análises conclui – se que diferentes microorganismos ocorrem em todos os pontos de processamento do peixe (carro transportador, armazenamento frigorífico, bancada de manuseio) apesar de ser em diferentes proporções;
- Com base nas análises de zaragoas feitas das mãos dos manipuladores pode - se concluir que o ponto no qual o nível de higiene é mais baixo é a bancada de manuseamento pois neste ponto existe maior número de bactérias (NMP) em relação aos outros pontos (locais);
- Conclui – se ainda que o manuseamento constitui um factor de contaminação microbiológica do peixe no serviço de alimentação da Universidade Eduardo Mondlane;
- Estes resultados mostram que não há um sistema de controlo microbiológico regular na área de manipulação de alimentos no serviço de alimentação da Universidade Eduardo Mondlane.

9. RECOMENDAÇÕES E LIMITAÇÕES

-Recomenda-se que num estudo posterior se faça pesquisas de outras bactérias patogénicas como a Salmonella;

-Recomenda-se que se faça pesquisa discriminada de cada bactéria patogénica, ou grupo microbiológico, para avaliar a sua ocorrência no peixe, possíveis causas e implicações na saúde do consumidor;

-Recomenda-se ao serviço de alimentação, uma melhoria nos cuidados higiénicos, controlo dos produtos de limpeza e desinfeção usados, controlo dos locais de armazenamento dos alimentos.

Existe o sistema APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo - que tem por objectivos identificar e prevenir situações, locais ou acções em que estejam presentes perigos de contaminação de alimentos por patógenos. Juntamente com a implementação do sistema APPCC, recomenda-se um treinamento do pessoal envolvido no que diz respeito à lavagem correcta das mãos, práticas de higiene, limpeza e desinfeção de recipientes e materiais que entram em contacto com os alimentos;

-Recomenda-se o controlo de temperatura adequada na conservação dos alimentos, o uso de roupas adequadas com protectores como luvas e tocas. A adopção desse sistema nos serviços de alimentação da Universidade Eduardo Mondlane bem como em outros sectores de alimentação, certamente irá trazer grandes melhorias na qualidade e inocuidade dos alimentos preparados nesses locais.

Limitações

As dificuldades na realização deste trabalho consistiram no facto de não haver parceria entre o Departamento de Ciências Biológicas e o Laboratório Nacional de Higiene de Água e Alimentos-MISAU, o que levou a demora no início da colecta de amostras e análises laboratoriais. Além desta questão, houve dificuldades financeiras para compra do material para o trabalho.

10. BIBLIOGRAFIA

- Boulos, M..M.S; Bunho,R. (1999). Guia de Leis e Normas para Profissionais e Empresas da Área de Alimentos. 1 edição. Editora e livraria Varela. São Paulo. 169 pp
- Cunha, M,A. (2006). Métodos de detecção de microrganismos indicadores. v.1, n.1, p.09-13
- Cuamba, A.(2006). Pesquisa de *Vibrio spp* em amostras de *Hilsa Kelee* capturada na baía de Maputo. Tese de licenciatura. UEM.
- Ferreira, W. & Sousa, J. (1998). Microbiologia. Vol 1. Editora LIDEL. 335pp
- Fernandes, Â.(2003). Módulo 14-Higiene Alimentar água e saneamento; MISAU. Repartição de nutrição; 56pp
- Freedland C, P. Roller, R, D. Flynn, N, M. (2003). Microbial contamination of continuous drip feedings. J Parent Ent. 13: 18pp
- FAO & WHO. (1993). Codex Alimentarius-General Requirements. 2º edição.volume 1;103 pp
- Franco, B. D. G. M.(2003) Microbiologia dos Alimentos, 2º edição – São Paulo: Editora Atheneu.
- Guzman, Isabel. (1998).Manual de programas e material de educação nutricional.MISAU. Artes gráficas LTD.185pp
- Jr, Silva, E.A. (1999). Manual de controle Higiénico – Sanitário em Alimentos. 3º edição. Editora Varela LTD. São Paulo.397pp
- Leaderer, J. (1991).Enciclopédia moderna de Higiene Alimentar. Editora Manole Dois LTDA.São Paulo.224 pp.
- Leitão, M. F. de F. 1988. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. Seminário sobre Controle de Qualidade na Indústria de Pescado, P.13, ITAL. Santos, SP

- Lisboa SC. (1997) Bactérias Gram negativas e *Staphylococcus aureus* em serviço de alimentação hospitalar [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa
- MISAU- Ministério de Saúde .(1983). Manual de Microbiologia Médica. 142 pp
- MISAU- Ministério de Saúde.(1984). Manual de Microbiologia Alimentar. 139 pp
- Pereira, K.C. (1997). Estudo Tecnológico de Conservação e Processamento de Tilápia (*Oreochromis niloticus*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC, Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, 53 p. Florianópolis, SC.
- Rodrigues, M. Berlin, B.; Assis, L.Duarte, E.; Avelar, A.; Paixão, J.; Mattos, M.; Souza, M. (2004). Ciência e tecnologia de Alimentos. Vol 1.no 1.Campias
- Stori, F.T. (2000). Avaliação dos Resíduos da Industrialização do Pescado em Itajaí e Navegantes como Subsídio à Implementação de um Sistema Gerencial de Bolsa de Resíduos. Trabalho de Conclusão apresentado ao curso de Oceanografia - CTTMar/UNIVALI. 145 p. Itajaí, SC.
- Silva, C.I. (2006). Guia de boas práticas de higiene e de fabrico em cantinas escolares- Higiene Alimentar. // F: \Higiene % 20 Alimentar % 20 _% 20 Cantinas % 20 Escolares % 20 _% 20 Guia. Htm: acessado em 2 de Maio de 2007.
- Oliveira, M,H. Bonelli, R.Aidoo, K,E.Batista, R,V. (2000). Microbiological quality of reconstituted enteral formulations used in hospitals.Nutrition.729pp
- Pelczar,J.M. Chan,E.C.S. Krieg.N.R (1997).Microbiologia, Conceitos e Aplicações. 2ª edição. Volume 2. Editora Mkron. 517pp.

ANEXOS

ANEXOS

1- Limites recomendados (FAO & MISAU)

Peixe fresco e peixe congelado.

	n	c	m	M.
Bactérias mesófilas aeróbias	5	3	5×10^5	10^7
Escherichia coli (coliformes)	5	3	11	500

Onde:

n- número de amostras unitárias a serem examinadas

c- número máximo aceitável de amostras com resultados entre "m" e "M"

m- é o limite do microorganismo- teste aceitável nos alimentos

M- é o nível prejudicial do microorganismo- teste nos alimentos.

2- Do inquérito foi possível apurar os dados seguintes:

- Neste estabelecimento trabalham 85 pessoas no total;
- Cada trabalhador tem sua função bem definida;
- Os trabalhadores que lidam directamente com os alimentos (especialmente cozinheiros, serventes) usam um uniforme e tocas de cabeça, no entanto na altura desta pesquisa não dispunham de calçado apropriado nem luvas .
- Com relação á higiene do pessoal: Existe um local próprio para vestir o uniforme assim que se chega ao local;
- Não existe balneários;
- Existem locais de lavagem das mãos, com falta de detergentes e desinfectantes, e não contêm toalhas colectivas;

- Quanto á saúde dos trabalhadores, existe no local um posto médico. Nenhum trabalhador é permitido exercer sua função se apresentar qualquer problema de saúde.

3 - Dados de resultados das análises laboratoriais feitas das amostras de peixe

Amostragem 1

Amostras de peixe dos pontos	<i>Staphylococcus aureus</i>				Coliformes totais				Coliformes fecais				<i>Escherichia coli</i>			
Armazenamento	9	9	9	9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bancada	3	3	3	3	46	24	23	24	46	3	3	24	9	3	3	4
Carro	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Amostragem 2

Amostras de peixe dos pontos	<i>Staphylococcus aureus</i>				Coliformes totais				Coliformes fecais				<i>Escherichia coli</i>			
Armazenamento	10	9	9	9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bancada	3	3	3	3	42	23	11	24	42	93	11	24	11	15	4	3
Carro	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Médias da contagem das colónias de bactérias para as duas amostragens

Amostras de peixe dos pontos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes totais	Coliformes fecais	<i>Escherichia coli</i>
Carro de transporte	9.125	3	3	3
Armazenamento frigorífico	9.875	3	3	3
Bancada de manuseamento	11.875	30.75	27.125	6.5

**4- Amostras do substracto dos locais por onde o peixe passa
(zaragatoas)**

Amostragem 1

	Contagem /ml															
	S.aureus				C.totais				C.fecais				E,coli			
Armazenam	10	10	10	10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bancada	10	10	10	10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Mãos	9	9	9	9	3.6	23	23	3	3.6	9.1	3	3	3	3	3	3
Carro	9.9	9.9	9	9	3	3	3	3	0	0	0	0	3	3	3	3

Amostragem 2

	Contagem /ml															
	S.aureus				C.totais				C.fecais				E,coli			
Armazenam	10	9.1	10	10	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Bancada	10	10	10	10	23	23	23	9.1	23	23	23	9.1	3	3	3.6	3
Mãos	10	10	10	10	3.6	23	23	9.1	3.6	9.1	3	9.1	3.6	3	3	3
Carro	10	9	9	9	3	3	3	3	0	0	0	0	3	3	1	3

5: Análises estatísticas

Sistema SAS

Procedimento ANOVA

nível de		-----SA-----		
---CT---				
ponto	N	Média	Desvio padrão	Desvio padrão
Média		Desvio padrão		
armazem	8	9.8875000	0.31819805	
3.0000000		0.00000000		
bancada	8	10.0000000	0.00000000	
11.2625000		9.93592867		
carro	8	9.3500000	0.48403070	
3.0000000		0.00000000		
maos	8	10.0000000	0.00000000	
16.3375000		9.36908861		
nível of		-----CF-----		
---EC---				
Ponto	N	Média	Desvio padrão	Desvio padrão
Média		Desvio padrão		
armazem	8	3.0000000	0.00000000	
3.00000000		0.00000000		
bancada	8	11.2625000	9.93592867	
3.07500000		0.21213203		
carro	8	0.0000000	0.00000000	
2.75000000		0.70710678		
maos	8	9.6750000	8.60809420	
3.15000000		0.27774603		