

DESCONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ESPONJAS DE COZINHA UTILIZADAS EM SERVIÇOS DE ALIMENTAÇÃO

MICROBIOLOGICAL DECONTAMINATION OF KITCHEN SPONGES USED IN FOOD SERVICES

Aline dos Santos Marques,¹ Cássia Regina Nespolo,^{1, 2} Franciele Cabral Pinheiro,² Giovana de Magalhães Soares,¹ Franciane Cabral Pinheiro¹

¹ Universidade Federal do Pampa – Unipampa/Itaqui, RS/Brasil. ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS/Porto Alegre, RS /Brasil.

Autor correspondente: Franciele Cabral Pinheiro e-mail: francielepinheiro@unipampa.edu.br

RESUMO

A ocorrência de doenças transmitidas por alimentos pode estar relacionada a práticas inadequadas na manipulação e preparação de alimentos e à contaminação cruzada, que podem envolver esponjas de cozinha. Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar a contaminação microbiológica de esponjas usadas em serviços de alimentação e verificar a eficácia de um procedimento para sua descontaminação. As esponjas foram coletadas em nove serviços de alimentação e substituídas por esponjas novas. Após uma semana de utilização, uma nova amostragem foi realizada e parte das esponjas foi submetida a um processo de descontaminação por imersão em água fervente. Análises microbiológicas incluíram contagens de mesófilos aeróbios totais, coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* sp. e presença de *S. aureus*. A quantificação de mesófilos aeróbios em esponjas novas (EN) variou de 2,85 a 8,92 logUFC/ml. A quantificação dos grupos coliformes totais e termotolerantes apresentou valores entre 0,48 e 3,04 logNMP/ml. Para *Staphylococcus* sp., as contagens foram de 2,65 logUFC/ml, acima de 3 logUFC/ml, demonstrando resultado positivo para *S. aureus* em amostras de dois dos estabelecimentos. Houve grande variação nas contagens microbiológicas entre os estabelecimentos e a descontaminação resultou em reduções significativas em grande parte dos estabelecimentos, variando de 84,2% a 98%. A partir desses resultados a descontaminação de esponjas de cozinha e sua substituição periódica mostraram-se essenciais para a segurança do alimento.

Palavras-chave: Serviços de alimentação. Inocuidade dos alimentos. Análise microbiológica. Descontaminação.

Submetido em: 5/8/2016

Aceito em: 28/3/2017

ABSTRACT

Occurrence of foodborne illness could be related to inappropriate practices in handling and preparation of food and to cross-contamination, which may involve kitchen sponges. Based on this, the aim of this study was to evaluate the microbiological contamination of kitchen sponges used in food services and to verify the effectiveness of a procedure for their decontamination. Sponges were collected in nine food services in Itaquí-RS and new sponges replaced them. After a week of use, a new sampling was performed and parts of sponges were submitted to the procedure for decontaminating by immersion in boiling water. Microbiological evaluations included total aerobic mesophilic counts, total and fecal coliforms, *Staphylococcus* sp., and presence of *S. aureus*. The quantification of aerobic mesophilic counts on new sponges (EN) ranged from 2.85 to 8.92 logCFU/mL. Quantification of total and fecal coliforms groups presented values between 0.48 to above 3.04 logMPN/mL. For *Staphylococcus* sp., counts were 2.65 logCFU/mL to over 3 logCFU/mL, demonstrating results positive for *S. aureus* in samples from two of the establishments. Large variation in microbiological counts was observed among the establishments, and the decontamination resulted in significant reductions in most of the establishments, ranging from 84.2% to 98%. From these results, the decontamination of kitchen sponges and their periodic replacement proved essential for the food safety.

Keywords: Food services. Food safety. Microbiological analysis. Decontamination.

INTRODUÇÃO

A vida moderna atribuiu um ritmo acelerado ao cotidiano das pessoas e levou a mudanças nos hábitos de vida e alimentares. Diversos fatores contribuem para isso, como o aumento da jornada de trabalho, tempo de locomoção, aumento da população em centros urbanos e, desta forma, levando às refeições fora de casa e à ampliação dos serviços de alimentação (ALVES; UENO, 2010; SÃO JOSÉ, 2012; SILVA et al., 2014).

Neste contexto, os restaurantes, padarias e similares aparecem atrás apenas das residências na lista de locais em que ocorrem Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (SREBERNICH et al., 2007). As DTAs estão relacionadas à ingestão de alimentos, de origem animal ou vegetal, ou de água contaminados. Dados disponíveis de surtos apontam como agentes mais frequentes os de origem bacteriana, entre os quais estão a *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* sp., *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2010; CARVALHO et al., 2016; SILVA et al., 2014). As doenças transmitidas por alimentos representam um sério problema à saúde pública, com as regiões Sudeste e Sul constituindo as que apresentam o maior número de surtos registrados (BRASIL, 2016; HENRIQUES, 2014; MAGNONI et al., 2016).

Para evitar as doenças de origem alimentar deve-se enfatizar ações que visam à prevenção de agentes patogênicos e das condições de maior risco, assegurando que os alimentos sejam preparados de modo a garantir a segurança do consumidor (ALVES; UENO, 2010). A qualidade de uma refeição é influenciada por inúmeros fatores, como qualidade da matéria-prima, limpeza dos equipamentos e utensílios, higiene pessoal do manipulador e adequada manutenção do tempo e temperatura durante o preparo e conservação dos alimentos (ABREU et al., 2010; ALVES; UENO, 2010; HENRIQUES, 2014). Nos serviços de alimentação torna-se imprescindível que equipamentos e utensílios que estão em contato com os alimentos passem constantemente por avaliação microbiológica para análise de microrganismos indicadores, como mesófilos e coliformes totais (ABREU et al., 2010; SÃO JOSÉ, 2012; SILVA et al., 2014).

O desconhecimento das boas práticas é outro fator que pode influenciar na contaminação do alimento. A forma mais preocupante é a contaminação cruzada, considerada um dos fatores mais importantes para o aumento de DTAs, que consiste em transferir microrganismos para o alimento a partir do manipulador, de materiais ou utensílios, ou mesmo de outro alimento (SREBERNICH et al., 2007; ABREU et al., 2010; ALVES; UENO, 2010). O manipulador tem uma grande importância, pois pode veicular doenças por estar doente ou como portador assintomático ou ainda por apresentar hábitos e métodos anti-higiênicos na preparação de alimentos. Diversas pesquisas demonstraram a relação existente entre manipuladores de alimentos e doenças bacterianas de origem alimentar (COELHO et al., 2010; SOUSA et al., 2013; NETO; ROSA, 2014).

As esponjas fazem parte do processo de limpeza de equipamentos e utensílios e nas etapas de pré-lavagem e lavagem com a finalidade de eliminar os resíduos de alimentos. São fabricadas a partir de espuma de poliuretano, que contém pequenos orifícios e por conta disso partes dos resíduos ficam retidos na superfície da esponja, tornando-a propícia para o desenvolvimento de microrganismos (SREBERNICH et al., 2007; ROSSI, 2010; SOUSA et al., 2013). Além dos resíduos, o manuseio de uma esponja pelo manipulador também pode favorecer a veiculação de contaminantes durante o preparo de refeições. O armazenamento das esponjas também influencia na proliferação de microrganismos, devendo-se higienizá-la sempre após o uso, ser descontaminada por algum processo recomendado, seca e mantida em local protegido da umidade (HENRIQUES, 2014; SÃO JOSÉ, 2012; SREBERNICH et al., 2007). A legislação não é clara quanto ao tempo de uso das esponjas ou o número de utensílios a serem higienizados a fim de padronizar a qualidade higiênico-sanitária de esponjas utilizadas em serviços de alimentação (BRASIL, 2004; SREBERNICH et al., 2007; SECRETARIA..., 2009).

Para evitar as doenças de origem alimentar torna-se imprescindível a higienização adequada e a efetivação das Boas Práticas nos estabelecimentos de alimentação. Nesse sentido, a avaliação microbiológica de esponjas de cozinha e as práticas de descontaminação fazem-se necessárias, uma vez que estes materiais são considerados reservatórios de microrganismos passíveis de contaminação cruzada. O presente trabalho teve por objetivo realizar a avaliação microbiológica de esponjas de cozinha utilizadas nos serviços de alimentação da cidade de Itaquí, RS, e verificar a eficácia de um processo de descontaminação por imersão em água fervente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos Estabelecimentos e Coleta das Amostras

A seleção dos serviços de alimentação foi realizada por conveniência, a partir de listagem de estabelecimentos fornecida pela Vigilância Sanitária Municipal. As coletas foram feitas em dois períodos, de dezembro de 2015 a janeiro de 2016. No primeiro houve coleta de esponjas já em uso no local, com auxílio de pinça descontaminada e colocadas em sacos plásticos de primeiro uso, sendo deixada uma esponja nova para a segunda etapa de avaliação. Foram coletadas esponjas sintéticas de espuma de poliuretano utilizadas há pelos menos um dia nesses serviços de alimentação, nomeadas como Esponjas em Uso (EU), porém os manipuladores não sabiam precisar o seu tempo de uso. As esponjas novas fornecidas aos estabelecimentos eram de um mesmo fabricante e de um único lote, sendo os manipuladores orientados a usar de forma rotineira, durante uma semana. Na embalagem das esponjas havia indicação de um procedimento de descontaminação, porém os manipuladores não foram orientados a realizá-lo. Estas Esponjas Novas (EN) após sete dias de uso também foram coletadas com pinça descontaminada e colocadas em sacos plásticos de primeiro uso. O transporte foi feito em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável para manter a temperatura abaixo de 10°C, e foram levadas ao laboratório em até uma hora após a coleta.

Na coleta das esponjas EN, metade de cada uma foi submetida ao mesmo procedimento da primeira coleta, enquanto a parte restante foi submetida ao procedimento de descontaminação em laboratório. Para tanto, 500 ml de água destilada foram aquecidos em forno micro-ondas, em potência máxima, até atingir a fervura. O fragmento ficou imerso nessa água por 10 minutos, dentro da câmara de fluxo laminar. O método de higienização da esponja por imersão em água quente consta como instrução na embalagem do produto, a qual indica imersão por 10 minutos da esponja inteira em um litro de água que atingiu a fervura. O uso de água destilada fervente e da câmara de fluxo laminar objetivaram evitar que interferentes provenientes da água ou do ar viessem a agregar contaminação às amostras, testando-se apenas a influência do procedimento de descontaminação por calor úmido sobre as esponjas. Transcorridos os 10 minutos de imersão, foi retirado o excesso de água do fragmento com o auxílio de uma pinça esterilizada e a amostra descontaminada por imersão em água fervente foi nomeada como esponja descontaminada (ED). Esse fragmento foi colocado em saco estéril, com 100 ml de diluente, seguindo-se as etapas para realização das análises microbiológicas. A amostragem foi feita com duas esponjas para cada um dos tratamentos (EU, EN e ED), em cada estabelecimento, e a análise microbiológica foi realizada com metade das esponjas.

Avaliação Microbiológica

As análises foram realizadas no Laboratório de Biologia da Universidade Federal do Pampa (Unipampa). Os procedimentos laboratoriais ocorreram de forma asséptica, e as determinações microbiológicas foram feitas em câmara de fluxo laminar (BSTECC®). As esponjas foram cortadas ao meio com tesoura esterilizada por calor seco, e um dos fragmentos foi colocado em um saco estéril contendo 100ml de diluente água peptonada 0,1%

(Himedia®), adicionada de tiosulfato de sódio 0,1%. Em seguida o saco foi fechado e feita a homogeneização em equipamento Stomacher (LS LogenScientific®) durante 60 segundos. Posteriormente esse fragmento foi analisado para verificação de mesófilos aeróbios totais, coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* sp.

A contagem de mesófilos aeróbios totais foi feita por plaqueamento em Ágar Padrão de Contagem (PCA) (Oxoid®). As placas foram incubadas em estufa (EletroLab®) a 37°C, por 24-48 horas (BRASIL, 2003).

Para coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com as diluições seriadas contendo 0,1, 0,01 e 0,001ml do caldo diluente. Essa técnica consiste na diluição da amostra em tubos de ensaio, contendo, no fundo, um tubo de Durham invertido. Os coliformes totais foram avaliados em Caldo Bile Verde Brilhante (CVB) (Himedia®) e os tubos incubados a 37°C por 48 horas. A confirmação de coliformes termotolerantes foi realizada em caldo *Escherichia coli* (EC) (Himedia®), em incubadora (Novatecnica®) a 45°C por 48 horas. A quantificação do Número Mais Provável (NMP) ocorreu por meio da leitura dos resultados e verificação na Tabela de Hoskins (AMERICAN..., 2005; BRASIL, 2003).

As contagens de *Staphylococcus* sp. foram realizadas na superfície do Ágar Baird-Parker (Himedia®), contendo gema de ovo e telurito de potássio 0,01%. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 48 horas (SILVA et al., 2007). Após contagem das placas com *Staphylococcus* sp., as colônias características para *S. aureus* (pretas com halos) foram transferidas do meio Baird-Parker para o meio Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia®), logo incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Passadas as 24 horas, foram realizados os testes de catalase e coagulase. O teste de catalase foi feito com solução de peróxido de hidrogênio 3% e o de coagulase conjugada utilizou plasma de coelho (Probac®) (SILVA et al., 2007; BRASIL, 2013).

Análise Estatística

Após a realização das contagens e confirmação dos resultados, os dados foram processados no Microsoft Excel® para elaboração dos cálculos. Os resultados das contagens foram transformados em logaritmo e expressos como média e desvio padrão. Os dados foram avaliados pelo programa ASSISTAT 7.7 beta (SILVA; AZEVEDO, 2002), quando foi aplicada análise de variância seguida pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS

As coletas foram realizadas em nove estabelecimentos do município de Itaqui, RS, dos quais cinco eram lancherias, três restaurantes e uma pizzaria. A Tabela 1 apresenta as contagens de mesófilos aeróbios totais nas esponjas avaliadas.

A Tabela 2 apresenta os valores para o grupo coliformes totais quantificado nas esponjas.

Os resultados de coliformes termotolerantes quantificados nas esponjas constam na Tabela 3.

As contagens de *Staphylococcus* sp. nos diferentes grupos de esponjas avaliados podem ser visualizadas na Tabela 4.

A verificação da presença de *Staphylococcus aureus* nas amostras demonstrou presença deste microrganismo nas EU do estabelecimento 1 e nas EU e EN do estabelecimento 8. O valor médio quantificado para a amostra EU do estabelecimento 1 foi de 0,61 logUFC/ml, enquanto que no estabelecimento 8 a quantificação foi 0,71 logUFC/ml para EU e 0,57 logUFC/ml para EN.

Tabela 1 – Avaliação de mesófilos aeróbios totais em esponjas coletadas de serviços de alimentação de Itaqui, RS, 2015/2016

Estabelecimento	EU	EN	ED
	(logUFC/mL)	(logUFC/mL)	(logUFC/mL)
1	5,02 ± 0,88 ^{a,b,c}	3,75 ± 1,75 ^{a,b,c}	3,85 ± 1,85 ^{a,b,c}
2	7,04 ± 0,01 ^{a,b}	7,30 ± 0,01 ^{a,b}	n.d. 10 ^{-1*} c
3	6,19 ± 1,89 ^{a,b,c}	7,61 ± 0,01 ^{a,b}	2,60 ± 0,01 ^{b,c}
4	7,19 ± 0,35 ^{a,b}	3,54 ± 1,54 ^{a,b,c}	2,70 ± 0,01 ^{b,c}
5	6,32 ± 0,02 ^{a,b,c}	2,90 ± 0,01 ^{a,b,c}	2,30 ± 0,01 ^{b,c}
6	6,35 ± 0,20 ^{a,b,c}	2,85 ± 0,01 ^{a,b,c}	5,00 ± 0,01 ^{a,b,c}
7	8,15 ± 0,01 ^{a,b}	7,41 ± 0,01 ^{a,b}	n.d. 10 ^{-1*} c
8	5,49 ± 0,01 ^{a,b,c}	7,48 ± 0,01 ^{a,b}	n.d. 10 ^{-1*} c
9	6,18 ± 0,34 ^{a,b,c}	8,92 ± 3,92 ^a	3,04 ± 0,44 ^{a,b,c}

Valores apresentados como média ± desvio padrão da média (n=2); EU – esponja em uso no local; EN – esponja nova após uma semana de uso; ED – esponja nova após uma semana de uso e após procedimento de descontaminação; * n.d. – não detectada contagem na menor diluição testada. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas ou linhas não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Fonte: Dados dos autores

Tabela 2 – Verificação do grupo coliformes totais nas esponjas provenientes de serviços de alimentação de Itaqui, RS, 2015/2016

Estabelecimento	EU	EN	ED
	(logNMP/mL)	(logNMP/mL)	(logNMP/mL)
1	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	0,72 ± 0,24 ^c
2	0,96 ± 0,01 ^c	Maior que 3,04 ^a	1,04 ± 0,01 ^{b,c}
3	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^c
4	Maior que 3,04 ^a	2,61 ± 0,43 ^{a,b}	Menor que 0,48 ^c
5	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	0,87 ± 0,01 ^c
6	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^c
7	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	0,56 ± 0,01 ^c
8	1,58 ± 0,01 ^{a,b,c}	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^c
9	1,92 ± 0,29 ^{a,b,c}	Maior que 3,04 ^a	1,76 ± 1,28 ^{a,b,c}

Valores apresentados como média ± desvio padrão da média (n=2); EU – esponja em uso no local; EN – esponja nova após uma semana de uso; ED – esponja nova após uma semana de uso e após procedimento de descontaminação. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas ou linhas não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Fonte: Dados dos autores

Tabela 3 – Contagem de coliformes termotolerantes nas esponjas coletadas dos serviços de alimentação de Itaquí, RS, 2015/2016

Estabelecimento	EU	EN	ED
	(logNMP/mL)	(logNMP/mL)	(logNMP/mL)
1	1,22 ± 0,75 ^{a,b,c}	Maior que 3,04 ^a	0,72 ± 0,24 ^{b,c}
2	0,79 ± 0,01 ^{b,c}	0,79 ± 0,01 ^{b,c}	0,79 ± 0,01 ^{b,c}
3	1,76 ± 1,28 ^{a,b,c}	1,43 ± 0,01 ^{a,b,c}	1,18 ± 0,01 ^{a,b,c}
4	2,85 ± 0,19 ^{a,b}	Menor que 0,48 ^c	Menor que 0,48 ^c
5	2,24 ± 0,81 ^{a,b,c}	2,32 ± 0,01 ^{a,b,c}	1,04 ± 0,01 ^{a,b,c}
6	0,56 ± 0,01 ^c	Menor que 0,48 ^c	Menor que 0,48 ^c
7	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^c
8	Maior que 3,04 ^a	Maior que 3,04 ^a	Menor que 0,48 ^c
9	1,99 ± 0,67 ^{a,b,c}	1,99 ± 0,67 ^{a,b,c}	Menor que 0,48 ^c

Valores apresentados como média ± desvio padrão da média (n=2); EU – esponja em uso no local; EN – esponja nova após uma semana de uso; ED – esponja nova após uma semana de uso e após procedimento de descontaminação. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas ou linhas não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Fonte: Dados dos autores

Tabela 4 – Contagem de *Staphylococcus* sp. nas esponjas provenientes dos serviços de alimentação de Itaquí, RS, 2015/2016

Estabelecimento	EU	EN	ED
	(logUFC/mL)	(logUFC/mL)	(logUFC/mL)
1	3,07 ± 0,59 ^{b,c,d,e,f}	2,65 ± 0,35 ^{c,d,e,f}	2,30 ± 0,01 ^{c,d,e,f}
2	3,55 ± 0,09 ^{b,c,d,e}	5,97 ± 0,01 ^a	n.d.10 ^{-1*} f
3	3,16 ± 0,46 ^{b,c,d,e,f}	4,24 ± 0,01 ^{a,b,c,d}	2,00 ± 0,01 ^{d,e,f}
4	4,27 ± 0,46 ^{a,b,c,d}	3,39 ± 1,09 ^{b,c,d,e}	n.d.10 ^{-1*} f
5	3,48 ± 0,40 ^{b,c,d,e}	3,22 ± 0,10 ^{b,c,d,e,f}	2,30 ± 0,01 ^{c,d,e,f}
6	3,60 ± 0,01 ^{b,c,d,e}	3,98 ± 0,01 ^{a,b,c,d}	4,00 ± 0,01 ^{a,b,c,d}
7	inc. 10 ^{-3*} ^{a,b}	inc. 10 ^{-3*} ^{a,b}	n.d.10 ^{-1*} f
8	4,31 ± 0,01 ^{a,b,c}	3,43 ± 0,01 ^{b,c,d,e}	n.d.10 ^{-1*} f
9	3,63 ± 0,06 ^{b,c,d,e}	5,00 ± 1,31 ^{a,b}	1,00 ± 1,00 ^{e,f}

Valores apresentados como média ± desvio padrão da média (n=2); EU – esponja em uso no local; EN – esponja nova após uma semana de uso; ED – esponja nova após uma semana de uso e após procedimento de descontaminação; * n.d. – não detectada contagem na menor diluição utilizada; **inc. – incontável na maior diluição. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas ou linhas não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Fonte: Dados dos autores

DISCUSSÃO

Analisando-se os dados constantes na Tabela 1 verificou-se que as amostras EU dos estabelecimentos 1 e 8 apresentaram contagens de mesófilos aeróbios totais da ordem de 5 logUFC/ml, enquanto que a do estabelecimento 7 obteve maior contaminação, com 8,15 logUFC/ml. Em relação às análises das esponjas EN, o estabelecimento 6 apresentou menor contaminação (2,85 logUFC/ml) e a do estabelecimento 9 apresentou maior contaminação, com 8,92 logUFC/ml.

Após dez minutos de imersão das esponjas em água fervente, houve diminuição da contaminação por mesófilos nas esponjas EN em relação às ED (Tabela 1), de 8,92 logUFC/ml para 3,04 logUFC/ml no estabelecimento 9, com redução na contaminação microbiológica de 65,9%. Já as coletas nos estabelecimentos 2, 7 e 8 não apresentaram crescimento na diluição 10⁻¹, o que indica redução significativa acima de 98%, demonstrando a ocorrência da descontaminação.

Em trabalho realizado por Rossi (2010), que coletou 80 esponjas com pelo menos um dia de uso em serviços de alimentação do RS e SC, verificou-se que 76,75% (n=61) das esponjas coletadas apresentaram contagem de mesófilos de 7 a 9 logUFC/esponja, contagens próximas às encontradas na primeira coleta (EU). Ao utilizar o método de fervura por cinco minutos, em forno micro-ondas, o autor observou redução significativa na contagem de mesófilos, diminuindo acima de 99,9% (ROSSI, 2010). Os resultados de redução da contaminação obtidos por este autor foram superiores aos do presente estudo, porém com procedimentos de descontaminação mais intensos, posto que foi utilizada fervura em micro-ondas. A eficiência do método de fervura provavelmente deve-se ao calor da água e ao fato de a esponja se movimentar dentro do líquido, fazendo com que haja remoção dos resíduos de alimentos e facilitando a penetração do calor (ROSSI, 2010).

Na pesquisa realizada por Almeida et al. (2015), na qual foram coletadas dez esponjas de poliuretano com diferentes tempos de uso, em unidades de alimentação (restaurantes, bares, lancherias e padarias) de Montes Claros (MG), a contagem de bactérias mesófilas aeróbias inicial das esponjas foi de 9,1 logUFC/esponja. Após o processo de fervura por cinco minutos, os autores observaram que a contagem média de mesófilos foi de 0,5 logUFC/esponja e redução na ordem de 8,6 logUFC/esponja (ALMEIDA et al., 2015), indicando maior eficiência no processo de descontaminação do que o observado entre EN e ED (Tabela 1). A partir do estudo destes autores há um indicativo de que o processo de fervura por cinco minutos seja mais eficiente do que a simples imersão em água fervente por 10 minutos, demonstrando que há procedimentos para descontaminação de esponjas mais efetivos do que os propostos nas orientações de higienização constantes no rótulo das esponjas utilizadas no presente estudo.

A grande maioria das bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas e, mesmo as que não oferecem risco direto à saúde, em altas contagens indicam ocorrência de condições favoráveis à sua multiplicação, configurando inadequações nos procedimentos de higiene (ABREU et al., 2010; COELHO et al., 2010). Essa condição mostra a necessidade de haver padronização nos procedimentos de higienização, caso contrário poderia comprometer a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (COELHO et al., 2010).

Na Tabela 2 é possível visualizar a presença de altas contagens de coliformes totais em todas as amostras coletadas, mostrando-se notórias as diminuições dessas contagens após a descontaminação nas amostras ED. No procedimento de descontaminação por imersão em água fervente (ED) houve redução significativa da contaminação por coliformes totais nos grupos 1 a 8 quando comparados aos grupos EN. A redução na presença de coliformes totais variou de 42,1% (estabelecimento 9) a 84,2% (estabelecimentos 3, 6 e 8).

Srebernich et al. (2007) contabilizaram contagens de coliformes totais entre 5,81 a 8,20 logUFC/ml em esponjas com uso há três dias em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) na cidade de Campinas, SP. Ao comparar com resultados encontrados no presente trabalho (Tabela 2), observa-se que as amostras EN apresentaram contagem maior, porém o tempo de utilização destas também foi superior, com sete dias de uso. Contagens elevadas de coliformes totais indicam limpeza e desinfecção e/ou descontaminação de superfície, utensílios e equipamentos inadequadas, higiene insuficiente durante a preparação ou conservação de alimentos (SILVA et al., 2014).

A Tabela 3 apresenta contagem de coliformes termotolerantes em esponjas de cozinha. A presença deste grupo microbiano indica contaminação de origem fecal (JAY, 2005), o que torna sua presença ainda mais preocupante. É possível observar variações de valores entre os estabelecimentos e que o procedimento de descontaminação possibilitou diminuição significativa para a maioria das amostras, ao serem comparadas às esponjas EN. As amostras EU do estabelecimento 6 apresentaram a menor contaminação, enquanto que as dos estabelecimentos 7 e 8 apresentaram maior contaminação, acima de 3,04 logNMP/ml. Na amostragem das EN, o estabelecimento 4 juntamente com o 6 obtiveram as menores contaminações por coliformes termotolerantes, com valores menores que 0,48 logNMP/ml. As maiores contaminações ocorreram nas amostras dos estabelecimentos 1, 7 e 8, com valores acima de 3,04 logNMP/ml. A presença de coliformes termotolerantes, especialmente *Escherichia coli*, indica contaminação de origem fecal. Este grupo está associado a práticas higiênico-sanitárias inadequadas durante a preparação de alimentos, contaminação por produtos crus, ausência de procedimentos de desinfecção, contaminação cruzada carregada por alimentos contaminados, armazenamento em locais com presença de umidade e com temperatura elevada (ROSSI, 2010). Devido a isso, as contagens elevadas neste grupo devem ser avaliadas com precaução. As contagens de *Escherichia coli* encontrados por Srebernich et al. (2007) nas esponjas em uso há três dias em UANs, foram de 5,0 a 8,0 logUFC/ml, contaminação acima da encontrada nas esponjas EN dos serviços de alimentação de Itaquí (Tabela 3).

Com o procedimento de descontaminação ED (Tabela 3), as menores contagens obtidas foram abaixo de 0,48 logNMP/ml em cinco amostras dos estabelecimentos avaliados, com diminuição significativa nas contagens nos estabelecimentos 1, 7 e 8. As maiores diminuições na contaminação foram observadas nas esponjas dos estabelecimentos 7 e 8, com redução percentual da contagem de coliformes totais de 84,2%. Utilizando o método de fervura por cinco minutos, Rossi (2010) obteve reduções médias de 8,4 logUFC/esponjas (acima de 99,9%). Já com o método de desinfecção com hipoclorito de sódio 200 ppm, a redução foi 2,1 logUFC/esponja, superior a 99% (ROSSI, 2010). Ambos os métodos demonstraram eficiência maior do que o método de fervura utilizado nesse trabalho. Almeida et al. (2015) encontraram contagens médias de 5,7 logUFC/esponja, com valor final de 0,1 logUFC/esponja após descontaminação por fervura. Aplicando-se o método de desinfecção com hipoclorito (100 e 200 mgL⁻¹), a contagem de coliformes termotolerantes foi de 2,8 logUFC/esponja, salientando novamente a eficiência do calor na redução da contaminação.

Estudo realizado por Silva et al. (2014) referente à contaminação em talheres e pratos de dez restaurantes *self-service* e dez restaurantes populares na cidade de Juazeiro do Norte, CE, apresentou 50% de contaminação por *Escherichia coli* em todos os restaurantes, evidenciando possível contaminação de origem fecal. Em outro estudo realizado por Alves e Ueno (2010), em 16 restaurantes *self-service*, localizados na região central de Taubaté, SP, onde foram coletadas, em cada restaurante, quatro amostras de alimentos, dois quentes e dois frios, a *Escherichia coli* esteve presente em 19 alimentos frios (70,4%), porém verificou que 63,2% (n=12) destes alimentos encontravam-se à temperatura de 21°C. Dos alimentos quentes, a *Escherichia coli* foi encontrada em oito alimentos (29,6%) que estavam expostos à temperatura abaixo de 60°C, inclusive com um deles mantido abaixo de 40°C (ALVES; UENO, 2010). Estes resultados indicam como o abuso da temperatura, seja por falta de refrigeração ou por temperatura inferior na manutenção de pratos quentes, pode favorecer o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas. Da mesma forma, pode-se relacionar que não utilizar altas temperaturas para descontaminar as esponjas favoreceria a presença dos representantes dos coliformes termotolerantes.

Os resultados apresentados na Tabela 4 mostram altos níveis de contagem de *Staphylococcus* sp. As amostras EU e EN do estabelecimento 7 ficaram incontáveis na maior diluição (10⁻³) e as menores contagens ocorreram nas esponjas EU e EN do estabelecimento 1. Esponjas ED provenientes de quatro estabelecimentos não apresentaram contagens de *Staphylococcus* sp. na menor diluição empregada no experimento. Após descontaminação (ED), o estabelecimento 6 apresentou maior contagem, com 4,00 logUFC/ml, persistindo alta

contagem para estes microrganismos, mesmo após descontaminação. Nos estabelecimentos 2, 4, 7 e 8 houve redução estatisticamente significativa de *Staphylococcus* sp., acima de 96,7%.

O trabalho realizado por Silva et al. (2014), referente à contaminação em talheres e pratos de restaurantes de Juazeiro do Norte, CE, apresentou 100% (n=20) de contaminação por *Staphylococcus* sp. em utensílios de restaurantes *self-service*, enquanto que em utensílios dos restaurantes populares esse microrganismo aparece em 70% (n=14). Silva et al. (2011) analisaram a presença de microrganismos patogênicos em equipamentos e utensílios de dez agroindústrias de laticínios, na cidade de Rio Pomba (MG), e obtiveram resultados relacionados à presença do *Staphylococcus* sp. em todas as amostras.

A partir das amostras de *Staphylococcus* sp., quantificadas na Tabela 4, foi realizado o teste de colônias típicas para *Staphylococcus aureus*, que é a espécie coagulase positiva. A presença do *Staphylococcus aureus* foi confirmada nas esponjas EU dos estabelecimentos 1 e 8, e nas EN deste último, com valores médios de 0,57 a 0,71 logUFC/ml. Srebernich et al. (2007) encontraram contagem de *Staphylococcus aureus* de 1 a 3,87 logUFC/ml em suas amostras, usadas por três dias, contagens superiores às citadas anteriormente. A contaminação por *S. aureus* está relacionada principalmente aos manipuladores. Esta bactéria habita com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do manipulador e, conseqüentemente, os alimentos. Sua transmissão ocorre por meio de manipuladores assintomáticos ou não, e por equipamentos e superfícies de produção dos alimentos (SÃO JOSÉ, 2012). O risco da presença de *S. aureus* em amostras alimentícias está relacionado ao desenvolvimento da toxina estafilocócica, que são proteínas de baixo peso molecular, resistentes à cocção e as enzimas proteolíticas. A ingestão de uma dose (menor que 1g) pode provocar os seguintes sintomas: náuseas, vômitos e dores abdominais. Em casos mais graves, quando a ingestão da toxina for maior, podem ocorrer dores de cabeça, dores musculares e mudanças rápidas na pressão sanguínea e na taxa de pulsação. Altas contagens de *S. aureus* indicam condições de higiene e/ou sanitização precárias (FOOD..., 2011; MAJOLO et al., 2012).

Os quadros patológicos ligados diretamente à contaminação alimentar são problemas de saúde pública no Brasil, e os estabelecimentos que fornecem refeições coletivas tornam-se um dos principais condutores dos surtos de DTAs, acometendo principalmente crianças, idosos e imunodeprimidos (SILVA et al., 2014). A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) Nº 216, de 15 de setembro de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação (BRASIL, 2004). A partir disso, definiram-se as Boas Práticas (BP) a serem seguidas na preparação de alimentos prontos para consumo, Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) específicos para serviços de alimentação. Por meio dessa resolução ficou determinada a obrigatoriedade de cursos de capacitação para responsáveis pela manipulação de alimentos (SECRETARIA..., 2009; TONDO et al., 2015). Apesar da obrigatoriedade desses cursos, percebe-se que existe carência de tal capacitação e de avaliação da efetivação, quando aplicados, pois se observa que o hábito de realizar a higiene pessoal, a higiene do estabelecimento e a maneira de manipular os alimentos são hábitos diários (VILA; SILVEIRA; ALMEIDA, 2014). Deste modo, o manipulador pode apresentar barreiras relacionadas aos próprios hábitos em seu domicílio.

Vila, Silveira e Almeida (2014) realizaram uma pesquisa sobre condições higiênico-sanitárias em escolas públicas na cidade de Itaqui, RS e um dos pontos abordados foi verificar se havia a aplicação periódica de capacitação aos manipuladores. Os autores observaram que se realizavam capacitações, porém estas não foram colocadas em prática, pois foram observadas várias irregularidades durante a manipulação dos alimentos. Outro

ponto analisado foi que a higienização das esponjas não era realizada regularmente, sendo usadas para remoção de sujidades durante o preparo de alimentos (VILA; SILVEIRA; ALMEIDA, 2014).

Apesar dos riscos de contaminação cruzada legislação vigente não apresenta recomendação clara quanto à periodicidade de troca e aos procedimentos adequados de higienização, entretanto os utensílios utilizados para higienização de instalações devem ser distintos daqueles empregados para higienização de partes de equipamentos e utensílios que entram em contato com o alimento (BRASIL, 2004; SECRETARIA..., 2009).

Para a fabricação de esponjas usa-se a espuma de poliuretano, que está repleta de pequenos orifícios responsáveis por abrigar diversos microrganismos. Os orifícios, aliados à presença de material orgânico e umidade, fazem dessas esponjas veículos de contaminação cruzada (SOUSA et al., 2013). Além das esponjas, outros locais e superfícies dentro de estabelecimentos de alimentação podem ser considerados reservatórios simples de microrganismos, tais como banheiros, secadores de louça e drenos de pias. Estes apresentam alto nível de contaminação patogênica, porém baixa transmissão, diferentemente de esponjas e toalhas, que apresentam elevado nível de transmissão cruzada (SÃO JOSÉ, 2012).

Devido a esses fatores a descontaminação de esponjas e sua substituição periódica tornam-se tão cruciais para a segurança do alimento em serviços de alimentação e, conseqüentemente, para o consumidor. Por não existir um tempo determinado para a troca das esponjas, tudo irá depender da frequência de uso. Quanto mais utensílios forem lavados, diversas vezes ao dia, a substituição da esponja deve ocorrer com maior regularidade, entretanto é necessário aplicar procedimento de higienização após seu uso (DEON, 2012). Em alguns casos, a substituição das esponjas acontece quando ela começa a soltar fragmentos, fato constatado em estudo realizado por Deon (2012) em 51 domicílios de Santa Maria, RS. Em 34,6% (n=18), a troca das esponjas ocorria quando começavam a soltar fragmentos, enquanto em 32,6% (n=17) houve relato de troca semanal e em 5,7% (n=3) a troca era realizada quando elas estavam sujas. Devido ao uso comum, as esponjas permitem a dispersão de bactérias em várias áreas da cozinha, especialmente equipamentos e utensílios e superfícies utilizadas para o preparo de alimentos (SÃO JOSÉ, 2012), então é importante buscar formas de evitar que este material seja fonte de contaminação cruzada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados das quantificações de microrganismos foi possível observar altas contagens, especialmente nos grupos mesófilos aeróbios totais, coliformes totais e *Staphylococcus* sp., nas esponjas EU e EN, evidenciando condições favoráveis à propagação de microrganismos. Após procedimento de descontaminação por meio de imersão em água fervente, houve reduções de 42,1% a 98%, demonstrando eficiência do procedimento de imersão em água fervente por 10 minutos. Apesar disto, dados da literatura revelam que a descontaminação de esponjas pelo método de fervura pode ser mais eficiente para eliminação de microrganismos.

As altas contagens presentes nas amostras analisadas ressaltam que as esponjas podem ser importantes fontes de contaminação cruzada, devendo ser diariamente higienizadas, após seu uso, e trocadas frequentemente. O procedimento de descontaminação por calor úmido, como a imersão da esponja em água fervente durante dez minutos, pode ser uma alternativa para auxiliar na redução da contaminação microbiana. Estudos adicionais são necessários para verificar se a higienização das esponjas nas condições de trabalho dos serviços de alimentação promoveria este controle microbiano, bem como para determinar a frequência adequada para sua substituição.

Além disso, é de suma importância haver capacitação para manipuladores de alimentos e supervisão para o cumprimento das Boas Práticas e Procedimentos operacionais padronizados, a fim de que o manipulador saiba

desenvolver, de forma correta, hábitos indispensáveis e adequados de higiene e manipulação dos alimentos, conferindo tranquilidade, segurança e satisfação ao consumidor final desses serviços de alimentação.

REFERÊNCIAS

ABREU, E. S. et al. Eficácia dos métodos de higienização de utensílios em restaurantes comerciais. *Revista Simbio-Logias*, São Paulo, v. 3, n. 5, p. 132-142, 2010.

ALMEIDA K. V. et al. Métodos físicos e químicos no controle microbiano de esponjas de poliuretano usadas em unidades de alimentação de Montes Claros. *Caderno de Ciências Agrárias*, Montes Claros, v. 7, n. 2, p. 45-49, 2015.

ALVES, M. G.; UENO, M. Restaurantes self-service: Segurança e qualidade sanitária dos alimentos servidos. *Revista Nutrição*, Campinas, v. 23, n. 4, p. 573-580, 2010.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21. ed. Washington: APHA, 2005.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde*. Módulo 5: Tecnologias em serviços de saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília: Anvisa, 2013.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 216, de 15 de setembro de 2004. *Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação*. Brasília: D.O.U., 2004.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. *Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água*. Brasília: D.O.U., 2003.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. *Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil 2016*. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta---o-Surtos-DTA-2016.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2016.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância epidemiológica. *Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

CARVALHO, L. S. C. et al. Boas Práticas e qualidade sanitária dos alimentos servidos em restaurantes do tipo self-service no campus da Universidade Federal do Pará. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, v. 23, n. 2, p. 924-932, 2016.

COELHO, A. I. M. et al. Contaminação microbiológica de ambientes e de superfícies em restaurantes comerciais. *Ciência & Saúde Coletiva*, Manguinhos, v. 15, supl. 1, p. 1.597-1.606, 2010.

DEON, B. C. *Diagnóstico de boas práticas de alimentação em domicílios da cidade de Santa Maria-RS*. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

FOOD INGREDIENTS BRASILEL. Microrganismos causadores de doenças de origem alimentar. *Revista FiB*, São Paulo, n. 19, p. 50-59, 2011.

HENRIQUES, B. J. M. *Relação entre a higienização entre manipuladores e superfícies e a contaminação do produto final em pequenas indústrias alimentares*. 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Alimentar) – Universidade de Aveiro, Aveiro, 2014.

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

MAGNONI, D. et al. Segurança alimentar e informação nutricional podem reduzir a intoxicação alimentar na alimentação fora do lar. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, Porto Alegre, v. 31, n. 2, p. 91-96, 2016.

MAJOLO, C. et al. Avaliação de métodos rápidos para a quantificação de *Staphylococcus aureus* em alimentos. In: SIMPÓSIO DE MICROBIOLOGIA APLICADA 6., ENCONTRO LATINO-AMERICANO, 2., 2012, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. p. 1-6.

MOMESSO, N. N. et al. Estudo da contaminação microbiana no preparo de fórmulas lácteas infantis em lactário de um hospital universitário do sul de Minas Gerais. *Revista Ciências em Saúde*, Itajubá, v. 6, n. 3, p. 1-16, 2016.

NETO, A. C.; ROSA, O. O. Determinação de microrganismos indicadores de condições higiênica sanitárias nas mãos de manipuladores de alimentos. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, Ponta Grossa, v. 8, n. 1, p. 1.251-1.261, 2014.

ROSSI, E. M. *Avaliação da contaminação microbiológica e de procedimento de desinfecção de esponjas utilizadas em serviços de alimentação*. 2010. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SÃO JOSÉ, J. F. B. Contaminação microbiológica em serviços de alimentação. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação*, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 78-92, 2012.

SECRETARIA ESTADUAL DA SAÚDE DO RIO GRANDE DO SUL (SESRS). *Portaria 78*, de 30 de janeiro de 2009. Estabelece procedimentos de boas práticas para serviços de alimentação. Porto Alegre, RS, 2009.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o Sistema Operacional Windows. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002.

SILVA, M. L. Q. et al. Análise microbiológica de pratos e talheres em self-service e restaurantes populares da cidade de Juazeiro do Norte-CE. *Revista Saúde e Pesquisa*, Maringá, v. 7, n. 3, p. 445-454, 2014.

SILVA, N. et al. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, N. B. N. et al. Avaliação microbiológica de equipamentos e utensílios utilizados em laticínios da região do Rio Pomba – MG. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 66, n. 378, p. 5-10, 2011.

SOUSA, T. M. et al. Análise microbiológica de esponjas de poliuretano utilizadas em cozinhas domésticas. *Revista Científica da Faminas*, Muriaé, v. 9, n. 1, p. 27-37, 2013.

SREBERNICH, S. M. et al. Avaliação microbiológica de esponjas contendo agentes bactericidas usadas em cozinhas de unidades de alimentação e nutrição da região de Campinas/SP, Brasil. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 85-88, 2007.

TONDO, E. C. et al. Avanços da segurança dos alimentos no Brasil. *Revista Visa em Debate Sociedade, Ciência & Tecnologia*, Manguinhos, v. 3, n. 2, p. 122-130, 2015.

VILA, C. V. D.; SILVEIRA, J. T.; ALMEIDA, L. C. Condições higiênico-sanitárias de cozinhas de escolas públicas de Itaqui, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Visa em Debate Sociedade, Ciência & Tecnologia*. Manguinhos, v. 2, n. 2, p. 67-74, 2014.