

1 **AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA DE**
2 **CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***
3 **PRESENTES EM FRUTAS E HORTALIÇAS**
4 **COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE CARUARU-PE**

5
6 **RESISTÊNCIA BACTERIANA EM FRUTAS E HORTALIÇAS**

7
8
9 *LIMA Camila Ananias¹; JÁCOME JÚNIOR Agenor Tavares²;*

10
11 ¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário Tabosa de
12 Almeida (Asces-Unita).

13
14 ²Professor Dr. Adjunto II do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-
15 Unita).

16
17
18
19
20
21
22
23 *Autor para correspondência: Camila Ananias de Lima – Asces-Unita – Rua
24 Moxotó 40, Maurício de Nassau - Caruaru – PE – Brasil. – CEP: 55014-190 –
25 TEL: (81) 99662-3839 ; E-mail: camila1.0@hotmail.com

RESUMO

27

28

29 Frutas e hortaliças são consideradas fontes potenciais de contaminação por
30 microrganismos patogênicos causadores de surtos alimentares, como é o caso
31 da *Pseudomonas aeruginosa*, onde algumas cepas produzem polissacarídeos
32 extracelulares, que impedem a fagocitose, prejudicando a difusão de
33 antibióticos e facilitando a colonização. O objetivo do estudo foi avaliar a
34 resistência das cepas de *P. aeruginosa* isoladas de frutas e hortaliças
35 comercializadas no município de Caruaru-PE. Trata-se de um estudo
36 laboratorial/experimental, sendo as coletas realizadas por conveniência no
37 Centro de Abastecimento do município de Caruaru-PE. Dezoito amostras
38 analisadas revelaram a presença da *P. aeruginosa*, onde a uva apresentou um
39 índice de contaminação mais elevado (>1600 NMP/g⁻¹), além da presença de
40 multirresistência em uma cepa isolada de um tomate. Com os dados observou-
41 se que essa contaminação pode ocorrer devido a exposição desses alimentos,
42 além do seu potencial hidrogeniônico (pH) relacionado às hortaliças torna mais
43 susceptível o crescimento de microrganismos, nas frutas, sua contaminação se
44 dá devido à má higienização do transporte e do local de seu comércio. Desse
45 modo, por ser um centro de abastecimento e distribuição de alimentos, torna-se
46 fundamental o monitoramento da produção à venda desses alimentos, afim de
47 evitar a disseminação de doenças de transmissão alimentar.

48

49 **Palavras-chave:** Frutas, hortaliças, *Pseudomonas aeruginosa*, resistência,
50 DTAs.

51

52

53

54

55

56

ABSTRACT

Resistance assessment of bacterial strains *Pseudomonas aeruginosa* present in fruits and vegetables marketed in Caruaru-PE municipality

Fruits and vegetables are considered potential sources of contamination by pathogenic microorganisms causing outbreaks of foodborne diseases, such as *Pseudomonas aeruginosa*, where some strains producing extracellular polysaccharides, phagocytosis preventing, hindering the diffusion of antibiotics and facilitating colonization. The aim of the study was to evaluate the resistance of isolated *P. aeruginosa* strains of fruits and vegetables sold in the municipality of Caruaru-PE. This is a laboratory / experimental study, and the samples taken for convenience in Caruaru-PE municipality Supply Center. Eighteen samples analyzed showed the presence of *P. aeruginosa*, wherein the grapes had a higher contamination rate ($> 1\ 600$ MPN / g-1), and the presence of multidrug resistance in a strain isolated from a tomato. With the data revealed that this contamination may occur due to exposure of food, beyond its hydrogen potential (pH) related to vegetables makes more likely the growth of microorganisms, in fruits, contamination is due to poor hygiene transport and place of their trade. Thus, as a supply center and distribution of food, becomes critical to monitor production for sale of these foods, to prevent the spread of foodborne diseases.

KeyWords: Fruits, vegetables, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance, DTAs.

87 **INTRODUÇÃO**

88 Frutas e hortaliças são componentes essenciais de uma dieta saudável,
89 sendo fontes de micronutrientes¹. Estes alimentos, deterioram-se após a
90 colheita devido a alterações fisiológicas. Entretanto, as lesões provocadas
91 durante este processo favorecem a colonização dos tecidos vegetais por
92 microrganismos deteriorantes e patogênicos^{2,3}.

93 Dentre os microrganismos patogênicos, encontra-se a *Pseudomonas*
94 *aeruginosa*, um importante patógeno oportunista responsável por inúmeras
95 infecções hospitalares⁴. Na indústria de alimentos este patógeno apresenta-se
96 amplamente distribuído por ser capaz de sobreviver a baixas concentrações de
97 nutrientes e de se multiplicar mesmo sob refrigeração⁵.

98 O surgimento da múltipla resistência aos agentes antimicrobianos em
99 bactérias patogênicas se tornou uma importante ameaça na saúde pública⁶. O
100 desenvolvimento da resistência bacteriana é extremamente relevante do ponto
101 de vista clínico, porque podem comprometer o tratamento de doenças
102 infecciosas, assim como outros procedimentos terapêuticos que envolvem
103 imunossupressão e, portanto, necessitam de agentes anti-infecciosos e
104 potentes terapias preventivas⁷.

105 Alimentos como frutas e hortaliças, dentre outros vegetais, podem ser uma
106 fonte de microrganismos contendo genes de resistência aos antibióticos,
107 sobretudo quando estes não são devidamente tratados antes do
108 consumo^{8,9,10,11}. A preocupação é ainda maior com relação aos alimentos
109 consumidos crus, onde cepas resistentes da *P. aeruginosa*, a várias classes de
110 antibióticos, foram isoladas em alfaces frescas, cenouras, tomates e pepinos
111 de mercados na Jamaica⁹.

112 A ocorrência de bactérias com resistência a múltiplos agentes
113 antimicrobianos nos alimentos trazem diversas implicações à saúde humana¹².
114 Em uma pesquisa realizada por Jácome, *et al.*¹³, a *P. aeruginosa* é capaz de
115 acumular vários fatores de virulência, os quais muitas vezes estão associados
116 com a resistência a múltiplas drogas.

117 Frente a sua múltipla resistência aos agentes antimicrobianos, este é um
118 dos microrganismos mais comumente pesquisados¹⁴, pois os mecanismos de
119 resistência utilizados por esta espécie bacteriana a torna capaz de inibir ou
120 driblar a ação de diferentes tipos de antimicrobianos utilizados na prática
121 clínica¹⁵.

122 Levando em consideração a importância deste patógeno, o estudo buscou
123 avaliar a resistência das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de frutas
124 e hortaliças comercializadas no Centro de abastecimento no município de
125 Caruaru-PE.

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142 MATERIAL E MÉTODOS

143 Coleta das amostras

144 As amostras foram coletadas no Centro de Abastecimento do município
145 de Caruaru, no agreste pernambucano e teve seu início em Janeiro de 2016,
146 sendo finalizado em Abril do mesmo ano. Os alimentos foram selecionados de
147 acordo com o plano de amostragem descrito no Codex Alimentarius¹⁶. Desse
148 modo, o universo da amostra foi constituído de acordo com a quantidade de
149 frutas e hortaliças consumidas *in natura* e com casca comercializadas no
150 centro de abastecimento (em torno de 2000 unidades/dia) e, deste, foram
151 coletadas de 5-10% (100 a 200 unidades) da quantidade total comercializada
152 para a obtenção da amostra bruta. Essas unidades foram selecionadas
153 independente do tamanho ou peso.

154 O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos utilizados
155 pelos próprios comerciantes. Para o transporte utilizou-se uma caixa isotérmica
156 contendo baterias de gelo, para a preservação das amostras, de acordo com o
157 que é preconizado pelo Codex Alimentarius¹⁶.

158 A redução da amostra bruta se deu pelo processamento em liquidificador
159 industrial (METVISA LOL6) com copo esterilizado. As amostras foram trituradas
160 e quarteadas desprezando-se 2/4 do peso total, gerando com isso a amostra
161 de laboratório. Todos os procedimentos foram feitos em condições estéreis
162 dentro de uma capela de fluxo laminar. A partir da amostra de laboratório
163 foram elegidas porções dos alimentos, nas quais utilizou-se 50g de cada um,
164 sendo estas liquefeitas em 200ml de soro fisiológico estéril, obtendo-se um
165 caldo para posterior análise bacteriológica.

166 Análise Bacteriológica

167 Para os alimentos processados pesquisou-se a presença de
168 *Pseudomonas aeruginosa* utilizando-se a técnica dos tubos múltiplos
169 recomendada pelo “Standard Methods for the Examination of Water and
170 Wastewater”¹⁷. Uma técnica probabilística que divide-se em uma etapa
171 presuntiva, onde foi utilizado o Caldo Asparagina para pesquisa de
172 *Pseudomonas sp* e uma etapa confirmatória que identifica a espécie

173 *Pseudomonas aeruginosa* utilizando o caldo Acetamida. As amostras foram
174 incubadas a uma temperatura entre 35 à 37°C de 24 à 48 horas.

175 As análises também seguiram os critérios estipulados pela RDC n.12 de
176 2001 da ANVISA ³¹.

177 **Isolamento das amostras**

178 Após identificação da *P.aeruginosa* no Caldo Acetamida, repicou-se em
179 Caldo BHI e com posterior incubação padrão. Em recipiente específico de
180 capacidade de 1,5mL(Eppendorf), depositou-se 750µL do caldo incubado com
181 adição de 250µL de glicerol a 80%, armazenando em freezer à temperatura de
182 -20°C.

183 **Teste de sensibilidade a antibióticos - antibiograma**

184 Cultivos puros de *Pseudomonas aeruginosa* isolados das frutas e
185 hortaliças, foram utilizados para realização dos antibiogramas pelo método de
186 difusão de disco, em meio Mueller-Hinton, conforme é preconizado no National
187 Committee for Clinical Laboratory Standards¹⁸.

188 Em todos os antibiogramas realizados, foram testados os seguintes
189 antibióticos: Gentamicina (GMN), Aztreonam (ATM), Cefoxitina (FOX),
190 Amicacina (AKN), Imipenem (IPM), Cefepime (CEF)

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200 RESULTADOS E DISCUSSÃO

201 As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) constituem um dos
202 problemas de saúde pública mais frequentes do mundo contemporâneo ^{19,20}. A
203 garantia da qualidade de um alimento é um importante aspecto a ser
204 considerado desde a sua produção até a comercialização e a segurança
205 desses alimentos está relacionada com a presença de microrganismos ²¹. No
206 presente estudo, a presença da *P. aeruginosa* foi observada em quase todas
207 as amostras, sendo encontrado em maior quantidade e mais frequente em
208 alimentos folhosos como é visto no caso do repolho e da couve-flor.

209 Inúmeras são as causas para a presença de elevada carga microbiana
210 nesse tipo de produto, entre as quais estão as técnicas de cultivo,
211 armazenamento, transporte e distribuição para consumo, a prática do uso de
212 adubo orgânico, a utilização de águas contaminadas para irrigação, o
213 transporte feito em engradados abertos e as condições de higiene no manuseio
214 e preparo das refeições, principalmente quando tais alimentos são consumidos
215 *in natura* ^{22,23,24}.

216 Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes ao patógeno
217 *Pseudomonas aeruginosa*. Dessa forma, o estudo considera os alimentos
218 impróprios para o consumo devido à presença do patógeno, e principalmente
219 diante da ausência do uso de um sanitizante, já que trata-se de um patógeno
220 oportunista e estar associado a infecções nosocomiais ²⁵.

221 A importância desse achado se dá pelo fato desses alimentos serem
222 consumidos com casca e na maioria das vezes não serem lavados pelos
223 consumidores. A *P. aeruginosa* apresenta resistência ao uso de alguns
224 sanitizantes como é o caso de substâncias a base de cloro ²⁶. No entanto
225 estudo feito por Silva et al.²², demonstra um percentual médio de redução
226 microbiana após o uso de sanitizantes a base de cloro que variou entre 92,3 a
227 94,4%.

228

229

230

231

232 **Tabela 1:** Resultados referentes à pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*. Nas
233 amostras os resultados são expressos em NMP g-1.

Alimento	Amostra (nº)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NMP)
Repolho	01	≥1600
	02	80
	03	≥1600
Couve-flor	01	240
	02	26
	03	≥1600
Tomate	01	0
	02	240
	03	6
Maçã	01	0
	02	4
	03	130
Pera	01	50
	02	240
	03	220
Uva	01	≥1600
	02	2
	03	30

234

235 A *P. aeruginosa* produz uma série de fatores de virulência. Algumas
236 cepas, produzem polissacarídeos extracelulares, que podem impedir a
237 fagocitose, facilitando a colonização do patógeno e prejudicando a difusão dos
238 antibióticos ²⁷.

239 Algumas das *P. aeruginosas* isoladas neste estudo, foram submetidas
240 ao antibiograma para verificar a existência de possível multirresistência a
241 antibióticos. Os resultados obtidos (Tabela 2) confirmaram que é possível a
242 presença de multirresistência desse microrganismo isolado de alimentos
243 consumidos *in natura*, como é o caso das frutas e hortaliças.

244

245

246

247

248 **Tabela 2:** Resultados referentes à pesquisa de multirresistência das cepas de
249 *Pseudomonas aeruginosa* isoladas das frutas e hortaliças.

250

Amostra (nº)	GMN	ATM	FOX	AKN	IMP	CEF
01	R	R	R	R	R	R
02	S	R	S	S	S	R
03	S	S	S	S	S	S
04	S	S	S	S	S	S
05	S	S	S	S	S	S
06	S	R	S	S	S	R
07	S	R	S	S	S	R
08	S	S	S	S	S	S
09	S	S	S	S	S	S
10	S	S	S	S	S	S

251 01 – Tomate; 02- Pêra; 03- Repolho; 04- Couve-flor; 05- Uva; 06- Maçã; 07- Pêra; 08-
252 Repolho; 09- Couve-flor; 10- Uva; R: Resistência; S: Sensível

253

254 Na Tabela 2, pode-se observar que a amostra 01 apresentou resistência
255 aos seis antibióticos nela testados, o que representa um caso isolado de
256 multirresistência, já que ela apresenta resistência a três ou mais classes de
257 antibióticos distintos ²⁸. Diferente das amostras 02, 06 e 07 que só
258 apresentaram resistência a dois antibióticos testados (Aztreonam e Cefepime),
259 que são utilizados sinergicamente no tratamento contra a *P. aeruginosa* ²⁹.

260 Isso ocorre pelo fato de que a *P. aeruginosa* está amplamente
261 distribuída no ambiente, além da característica intrínseca de apresentar baixo
262 nível de sensibilidade aos antimicrobianos, diversos mecanismos de
263 resistência, como hiperexpressão de bombas de efluxo, produção de β -
264 lactamases, perda ou expressão reduzida de proteínas de membrana externa
265 ³⁰.

266 Diante os resultados obtidos, o microrganismo se mostrou presente na
267 maior parte das amostras analisadas. Por se tratar de um ponto de comércio
268 que distribui alimentos para a cidade sede e cidades circunvizinhas, deve-se
269 considerar uma situação alarmante, já que milhares de pessoas tem acesso a
270 estes alimentos. Principalmente, pelo fato de se ter a presença de
271 multirresistência deste patógeno ligada aos alimentos, onde este

272 microrganismo é de extrema importância na prática clínica, pois só apresentava
273 estas características em hospitais. É importante evidenciar que não há
274 legislação abordando a presença da *P.aeruginosa* em alimentos, devido a
275 contaminantes por matéria orgânica. Assim, mostrando que além de gerar
276 surtos de DTAs (Doenças transmitidas por alimentos), pode-se haver infecções
277 mais graves e com dificuldade no tratamento, com um uso restrito de
278 antibióticos.

279

280

281

282

283

284

285

286

287

288

289

290

291

292

293

294

295

296

297

298

299

300 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

301 Diante dos objetivos propostos, conclui-se no achado que houve um alto
302 índice de contaminação por matéria orgânica nas frutas e hortaliças
303 comercializadas no Centro de Abastecimento no município de Caruaru-PE.
304 Além de detectar que na análise quanto a resistência do patógeno, destaca-se
305 os principais antibióticos: Cefepime, azetreonam nas amostras 02, 06 e 07 e
306 um caso de multirresistência na amostra 01.

307 Ressalta-se, portanto, a relevância da necessidade contínua de análise
308 dos alimentos consumidos *in natura* e da manutenção de um controle de
309 qualidade e higiene desde a produção à venda dos mesmos, dentro dos
310 centros de abastecimentos.

311 Considerando se tratar de um ponto de distribuição sistemático e intenso
312 para a cidade sede e circunvizinhas e diante, principalmente, da presença de
313 cepas multirresistentes encontradas nesses alimentos, torna o achado uma
314 situação alarmante, já que o patógeno *P.aeruginosa* está presente em hospitais
315 e como observado está sendo disseminado para o meio ambiente.

316 O monitoramento torna-se fundamental e de extrema importância e deve
317 ser ainda mais rigoroso, levando à população um consumo conscientizado dos
318 riscos que podem estar veiculados aos alimentos consumidos *in natura*
319 sobretudo a responsabilidade dos serviços/autoridades de saúde para orientar
320 produtores, distribuidores e consumidores sobre o manuseio e consumo dos
321 mesmos. Assim, evitando surtos de doenças de transmissão alimentar e o
322 agravamento na saúde pública das doenças evitáveis.

323

324

325

326

327

328

329 **AGRADECIMENTOS**

330 A Deus, pelo dom da vida, por estar ao meu lado a todo momento, por
331 me guiar, me guardar e me dá sabedoria para sempre seguir em frente e
332 alcançar a vitória. Por tudo e por todos aqueles que pela sua graça infinita
333 entraram na minha vida.

334 Aos meus Pais Adelmo Ananias de Lima e Gracineide Maria Ananias de
335 Lima, pelo amor, pela educação que me foi dada e por se fazerem sempre
336 presente em toda minha vida acadêmica e pessoal, me apoiando, ensinando
337 em todos os momentos difíceis e de constante alegria, por serem exemplos de
338 fé para mim.

339 Ao Prof^o Dr. Agenor Tavares Jácome Júnior, pela orientação, por sua
340 amizade, por ser um mestre, um pai e por cuidar de mim em por todos esses
341 anos de convivência, por estar comigo nos momentos de alegria, conquistas,
342 mas também nas dificuldades, por ser um exemplo de fé e sempre me mostrar
343 um Deus tão vivo e presente em minha vida.

344 Ao meu irmão, por tudo que vivemos e aprendemos um com o outro e a
345 toda minha família por todos os momentos compartilhados.

346 Aos meus amigos e parceiros José Jeyvson Florêncio de Queiroz e
347 Ákylla Fernanda Souza e Silva, por contribuírem de forma essencial para que
348 este projeto existisse, bem como a todos os demais pelos momentos de
349 descontração e companheirismo.

350 Aos funcionários e professores do Centro Universitário Tabosa de
351 Almeida (ASCES-UNITA), pelo conhecimento compartilhado, pela amizade e
352 pela pronta disposição sempre que precisamos.

353 Ao Projeto Águas do Agreste, por me conceder muitos frutos e
354 principalmente pelos momentos de alegria compartilhados por toda equipe. Por
355 me fazer crescer como profissional e como pessoa.

356 A todos aqueles que contribuíram para realização e construção deste
357 trabalho, meus mais sinceros agradecimentos.

358

359 **REFERÊNCIAS**

360

- 361 1- Franco AS, Castro IRR. **Impacto da promoção sobre consumo de**
362 **frutas e hortaliças em ambientes de trabalho.** *Rev. Saúde Pública,*
363 2013; V. 47, n. 1:29-36.
- 364 2- Romanichen C. et al. **Avaliação higiênico sanitária de alimentos**
365 **minimamente processados.** CESUMAR: Paraná, 2010.
- 366 3- Tondo EC. et al. **Avanços da segurança de Alimentos no Brasil.** *Vigil.*
367 *Sanit. Debate,* 2015.
- 368 4- Ferreira H. et al. **Susceptibilidade de amostras clínicas de**
369 ***Pseudomonas aeruginosa* a antibióticos e a clorexidina.** *Revista de*
370 *Epidemiologia e controle de infecção.* 2014.
- 371 5- Batista NN. et al. **Formação de biofilme por *Pseudomonas***
372 ***aeruginosa* sobre aço inoxidável em contato com leite e seu**
373 **controle por óleos essenciais.** Araraquara, 2014.
- 374 6- Magiorakos AP. et al. **Multidrug-resistant, extensively drug-resistant**
375 **and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for**
376 **interim standard definitions for acquired resistance.** *Clinical*
377 *Microbiology and Infection,* v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.
- 378 7- Martínez JL. **Natural antibiotic resistance and contamination by**
379 **antibiotic resistance determinants: the two ages in the evolution of**
380 **resistance to antimicrobials.** *Frontiers in microbiology,* v. 3, 2012. doi:
381 10.3389/fmicb.2012.00001
- 382 8- Ruimy R. Brisabois A, Bernede C, Skurnik D, Barnat S. et al. **Organic**
383 **and conventional fruits and vegetables contain equivalent counts of**
384 **Gram-negative bacteria expressing resistance to antibacterial**
385 **agents.** *Environ. Microbiol.* 12, 608–615. 2010. Doi: 10.1111/j.1462-
386 2920.2009.02100.x
- 387 9- Allydice-Francis K, Brown PD. Diversity of Antimicrobial Resistance and
388 Virulence Determinants in *Pseudomonas aeruginosa* Associated with
389 Fresh Vegetables. **International Journal of Microbiology,** 2012, Article
390 ID 426241, 7 pages. Doi:10.1155/2012/426241

- 391 10-Mokhtari W, Nsaibia S, Majouri D, Bem HÁ, Gharbi A, And AM.
392 **Detection and characterization of Shigella species isolated from**
393 **food and human stool samples in Nabeul, Tunisia, by molecular**
394 **methods and culture techniques. J. Appl. Microbiol.** 113, 209– 222.
395 2012. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2012. 05324.x
- 396 11-Castaneda-Ramirez C. et al. **Isolation of Salmonella spp. from lettuce**
397 **and evaluation of its susceptibility to novel bacteriocins of Bacillus**
398 **thuringiensis and antibiotics. J. Food Prot.** 74, 274–278. 2011. Doi
399 10.4315/ 0362-028X.JFP-10-324
- 400 12-Rolain JM. **Food and human gut as reservoirs of transferable**
401 **antibiotic resistance encoding genes. Frontiers in microbiology,** v.4,
402 2013.
- 403 13-Jácome PRLA, Alves LRL, Cabral AB, Lopes ACS, Maciel MAV.
404 **Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial**
405 **resistance and virulence factors in Pseudomonas aeruginosa**
406 **clinical isolates from Recife , State of Pernambuco, Brasil. Revista da**
407 **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Brasília, BR, v. 45, n. 6, p.**
408 **707-712, 2012.**
- 409 14-Valderrama SL, González PF, Caro MA, Ardila N. et al. **Factores de**
410 **riesgo para bacteriemia adquirida en el hospital por Pseudomonas**
411 **aeruginosa resistente a carbapenémicos en un hospital**
412 **colombiano. Biomédica,** v. 36, n. 2, 2015.
- 413 15-Gayathri D, Eramma NK, Devaraja TN. **Review article New Delhi**
414 **metallo beta- Lactamase-1 ; Incidence and threats . International**
415 **Journal of Biological & Medical Research, [S.I.] v. 3, n. 2, p. 1870-**
416 **1874, 2012.**
- 417 16-Jay JM. **Microbiologia de Alimentos,** 6ª ed. Artmed, Porto Alegre-RS,
418 2005. 712 p.
- 419 17-Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW, Greenberg AE. **Standard Methods for**
420 **the Examination of Water & Wastewater. Centennial Edition,** 21st
421 edition, 2012. p 1496.
- 422 18-NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standarts.
423 **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests –**

- 424 **approved standards M2-A7.** Seventh edition. Wayne, Pa: NCCLS;
425 2000.
- 426 19-Amson GV, Haracemiv SMC, Masson ML. **Levantamento de dados**
427 **epidemiológicos relativos a ocorrências/ surtos de doenças**
428 **transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná – Brasil.**
429 **Ciência e Agrotecnologia.** 2006.
- 430 20-Welker CAD. et al. **Análise microbiológica dos alimentos envolvidos**
431 **em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos**
432 **no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** R. Bras. Bioci: Porto Alegre,
433 2010.
- 434 21-Uchida NS, Assis LLR. **Análise da qualidade microbiológica de**
435 **hortaliças minimamente processadas comercializadas em Campo**
436 **Mourão, PR.** Vol.5, n.3, pp.17-22. 2014.
- 437
- 438 22-Pinheiro AB. et al. **Sanitização de Frutas e hortaliças na indústria de**
439 **alimentos.** UEG. 2011.
- 440 23-Silva AFS, Lima CA, Queiroz JJF, Jácome-Junior AT, Jácome PRLA.
441 **Análise bacteriológica das águas de irrigação de horticulturas.**
442 **Ambiente & Água,** 2016.
- 443 24-Silva AS, Silva IMM, Rebouças LT, Almeida JS, Rocha EVS, Amor ALM.
444 **Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças**
445 **comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia**
446 **(Brasil).** Vigil. sanit. debate 2016, 4(3): 77-33.
- 447 25-Olaimat An, Holley RA. **Factors influencing the microbial safety of**
448 **fresh produce: A review, *Food Microbiology*,** vol 32, Issue 1, October
449 2012, Pag 1-19.
- 450 26-Medeiros LV, Vasconcelos U, Calazans GMT. **Ocorrências de**
451 **linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* cloro resistentes em água**
452 **de diferentes origens.** Maringá, v. 29, n. 3, p. 309-313, 2007.
- 453 27-Mata PTG, Abegg MA. **Descrição de caso de resistência a**
454 **antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*.** Arq Mudi. 2007; 11(2):
455 20-25.
- 456 28-Coqueiro MMM. **Identificação e diferenciação molecular pela Análise**
457 **de Restrição de DNA Ribossomal Amplificado (ARDRA-PCR) das**

458 **espécies de Acinetobacter isoladas de pacientes de hospitais de**
459 **São Luís-MA.** São Luís, 2014.

460 29-Melo VV, Duarte IP, Soares AQ. **Guia de Antimicrobianos.** HC-UFG,
461 2012.

462 30-Fuentefria DB, Ferreira AE, Graf T, Corção G. ***Pseudomonas***
463 ***aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em**
464 **efluente hospitalar e água superficial.** Revista da Sociedade Brasileira
465 de Medicina Tropical. 41(5): 470-473, set-out, 2008.

466 31-Brasil MS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).
467 **Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento**
468 **Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus**
469 **anexos I e II.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília,
470 DF, 10 jan. 2001, Seção 1, n. 7-E, p. 45.

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481