



ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE SUCO VERDE COMERCIALIZADO POR UMA REDE VAREJISTA NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO

Lygia Maria Paulo da Silva Braga^a; Vanessa Tavares de Souza^a;
Marcel Mamede Rodrigues^a, Gustavo Luis de Paiva Anciens Ramos^{a,b};
Aline dos Santos Garcia Gomes^a

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Rio de Janeiro, Brasil.

^b Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ

RESUMO

A busca pelo consumo de alimentos frescos tem aumentado nos últimos anos, motivado pela maior consciência dos consumidores sobre a importância da escolha da alimentação e sua influência na promoção da saúde. Ao mesmo tempo, aumenta a procura pelos alimentos minimamente processados, em razão da praticidade oferecida, porém com significativo risco microbiológico. O presente trabalho visa avaliar a qualidade microbiológica de suco verde minimamente processado, pronto para consumo, de uma rede varejista com lojas nas zonas norte e sul do Rio de Janeiro. Um total de 11 amostras foram coletadas e submetidas a análises microbiológicas segundo a legislação vigente. Os isolados obtidos foram identificados pelo sistema bioquímico automatizado VITEK 2 Compact. Nenhuma amostra apresentou contaminação por *Salmonella* ou *Escherichia coli*, porém 36,4 % das amostras obtiveram contagem total de coliformes termotolerantes de origem não fecal em desacordo com os limites máximos toleráveis. Dos microrganismos isolados, 32% foram identificados como pertencentes ao complexo *Enterobacter cloacae* e 22% foram identificados como *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae*, espécimes que possuem potencial patogênico. Dependendo da dose infectante e da imunidade do indivíduo, o consumo de alimentos contaminados com tais espécies poderá significar um aumento do risco potencial a saúde.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, coliformes termotolerantes, controle de qualidade, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*



1. INTRODUÇÃO

Em um cenário onde a obesidade associada ao sedentarismo, ao estresse e as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT's) se torna cada vez mais comum, distintas pesquisas permitem prever os malefícios deste estilo de vida em médio e longo prazo. Devido a velocidade de difusão do conhecimento científico na comunidade, seja por programas de televisão, seja pelo interesse pessoal, as famílias brasileiras estão à procura de alimentos mais saudáveis, mostrando uma preocupação crescente do consumidor com a saúde (Nitzke et al., 2012).

De acordo com o Guia Alimentar para a População Brasileira, a ingestão de nutrientes adequados é essencial para obter-se uma boa saúde. Para assegurar uma alimentação equilibrada nutricionalmente e garantir o fator de proteção, e diminuição da ocorrência de várias doenças, é importante o consumo adequado de vitaminas, minerais e fibras (Brasil, 2014).

O ritmo de vida acelerado faz com que os consumidores tenham menos tempo para se dedicar ao preparo dos alimentos, abandonando hábitos alimentares tradicionais. Desta forma, acabam optando por produtos prontos, que se assemelhem ao alimento natural. Sendo assim, alimentos livres de conservadores, livres de agentes tóxicos, antibióticos, ou com alegação de propriedades funcionais e/ou de promoção da saúde, acabam chamando a atenção do consumidor (Nitzke et al., 2012)

Quando se trata de alimentos minimamente processados, o foco do consumidor não deve ser voltado somente para a qualidade nutricional, mas também para as condições higiênico-sanitárias. Tendo em vista os riscos advindos



de contaminação alimentar e o crescente aumento de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), é notória a crescente preocupação mundial voltada para a segurança dos alimentos (Shinohara et al., 2008).

A bebida mista comercial denominada “suco verde” consiste na combinação de água, couve e laranja, agregando alto valor nutricional e potencial funcional que podem auxiliar na manutenção da saúde. A ausência de conservantes, associada a ampla manipulação da bebida, gera um alerta com relação à sua qualidade microbiológica. Muitos casos de enfermidades transmitidas por alimentos não são notificados, pois seus sintomas são geralmente parecidos com discretas diarreias e vômitos (Forsythe, 2000).

No que tange a análise microbiológica destas bebidas, a Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece para bebidas mistas uma tolerância máxima permitida para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* (Brasil, 2001).

Assim, este estudo tem o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica e identificar espécies patogênicas eventualmente presentes neste tipo de suco na cidade do Rio de Janeiro, onde é amplamente consumido, visando a proteção à saúde da população que consome sucos in natura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e preparo das amostras

Foram coletadas amostras de suco verde de uma única rede varejeira, em lojas localizadas nas zonas Norte e Sul do Município do Rio de Janeiro. Um total de 11



amostras foram adquiridas durante os meses de março a maio de 2018. As análises foram realizadas em duplicata, de acordo com a metodologia de Silva et al (2007). O transporte foi realizado em caixas isotérmicas, até o Laboratório de Controle Microbiológico – BioManguinhos/Fiocruz, onde as análises foram realizadas no mesmo dia da coleta. As embalagens continham validade de 24 horas após a data de fabricação.

As embalagens dos produtos amostrados foram higienizadas com toalhas de papel embebidas em álcool 70% (v/v) e, em seguida, abertas assepticamente em cabine de fluxo laminar. Foram pipetados 25 mL de cada amostra com posterior transferência para recipiente estéril com 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v) (BioCen®) e homogeneizado em agitador (Fanem®) por aproximadamente 60 segundos, obtendo-se a diluição 10^{-1} .

Enumeração de coliformes termotolerantes

A partir da diluição inicial (10^{-1}), foram realizadas diluições seriadas até 10^{-5} . A partir de cada diluição, alíquotas de 0,1 mL foram inoculadas, em duplicata, na superfície de Ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA) e as placas foram incubadas em estufa em posição invertida, em temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 h. Após período de incubação, foi realizada a contagem das colônias, respeitando a faixa recomendada de contagem entre 15 e 150 colônias para o caso de quantificação microbiana, sendo posteriormente selecionadas as colônias típicas e atípicas.

As colônias típicas foram selecionadas e inoculadas com auxílio de uma alça bacteriológica em caldo EC (*Escherichia coli*) contendo tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 h. Após o período de incubação,



os tubos de Durham que apresentam gás aprisionado em seu interior e turvação do caldo evidenciam um teste positivo para o crescimento de coliformes termotolerantes.

Determinação de Salmonella sp.

Após ser retirado a alíquota para a análise de coliformes termotolerantes, a diluição 10^{-1} foi incubada a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 a 20 h para a realização do pré-enriquecimento. Após o tempo de incubação, 1 mL foi transferido para um tubo contendo 9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RP), 1 mL para um tubo contendo 9 mL de caldo Selenito-cistina (SC) e 1 mL para um tubo contendo 9 mL de caldo Tetrationato (TT) com adição de iodo. Todos os tubos foram incubados a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 a 30 h.

Após o tempo de incubação, 0,1 mL de cada tubo foi semeado na superfície de Ágar Salmonella-Shigella (SS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), em duplicata. As placas foram incubas em estufa em posição invertida, em temperatura de $41 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Após período de incubação, foram selecionadas as colônias típicas e atípicas em cada meio seletivo e diferencial.

Cultivo axênico de isolados

A partir das colônias selecionadas nos testes anteriores, foi realizado repique de cada isolado para placas de Agar Sangue de Carneiro a 5% (v/v) (BioCen®) e, estas, foram incubas em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ de 24-72 h de acordo com o tempo de crescimento de cada isolado previamente identificado em meios seletivos e diferenciais. Após a observação do crescimento, uma colônia (para cada um dos isolados previamente obtidos) foi isolada em uma placa de TSA (Agar Triptona de Soja



- BioCen®) e novamente incubada em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ de 24-72 h. A partir do cultivo em TSA, foi realizada coloração de Gram e a identificação dos microrganismos.

Identificação bioquímica por sistema automatizado VITEK 2 Compact®

A partir dos isolados cultivados em TSA, foram preparadas suspensões bacterianas em tubos de acrílico contendo 3 mL de solução salina estéril a 0,85% (p/v). Cada isolado foi colocado na posição desejada no sistema de identificação bioquímica via cassete de cartões. Ao ser colocado no cassete, um capilar é acoplado ao cartão, permitindo que a amostra seja capturada do tubo contendo a suspensão bacteriana referente a cada um dos isolados avaliados, sendo posteriormente utilizada para preencher os cartões de identificação. Foi testada a faixa de turvação de cada tubo de acrílico com a suspensão de cada isolado bacteriano de acordo com o resultado da coloração de Gram com DensiCHECK plus® e o DensiCHECK plus Standards kit®. De acordo com cada resultado de coloração de Gram, um tipo de cartão de identificação é selecionado. Cada cartão vem lacrado individualmente e contém 64 micropoços de provas bioquímicas as quais a amostra é submetida. No presente trabalho apenas o cartão de identificação “GN” foi utilizado tendo em vista que os dois grupos microbianos preconizados pela legislação são Gram negativos.

A partir das listas de resultados dos testes bioquímicos geradas, foi realizado o cadastro das amostras através do software “VITEK 2 SYSTEM”. O sistema apresenta um percentual de probabilidade de identificação das amostras, conforme o nível de confiança.



3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença ou ausência de microrganismos indicadores nas amostras é um referencial importante para avaliação das condições higiênico-sanitárias as quais foram submetidas. No caso de coliformes termotolerantes, quatro amostras foram classificadas como impróprias para consumo, tendo em vista contagens para este grupo microbiano superior ao preconizado pela RDC 12, de 02 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001).

A legislação preconiza ausência de *Salmonella* sp. no alimento analisado, e os dados obtidos a partir do crescimento seletivo/diferencial, conforme a metodologia oficial para análises microbiológicas, confirmam a ausência do gênero em todas as amostras avaliadas (Tabela 1).

Das 11 amostras de suco verde analisadas foram obtidos 83 isolados bacterianos, sendo duas estirpes de fungos do tipo leveduriforme e 81 estirpes de bastonetes Gram negativos (Tabela 1). Tanto o enriquecimento seletivo para *Salmonella* sp quanto o isolamento em meio seletivo e diferencial em VRBA para análise de coliformes inibem a presença de bactérias Gram positivas, justificando o isolamento apenas de Gram negativos.

Tabela 1: Quantificação de isolados bacterianos

Amostra	Local de coleta	Contagem de coliformes termotolerantes (UFC/mL)	Caldo EC	Colônias atípicas em ágar XLD	Colônias atípicas em ágar SS
AM01	Ipanema	$8,5 \times 10^6$	Negativo	2	3
AM02	Leblon 1	$11,9 \times 10^6$	Positivo	0	6
AM03	Leblon 2	$3,9 \times 10^3$	Positivo	3	1
AM04	Flamengo 1	$1,1 \times 10^3$	Negativo	3	3
AM05	Flamengo 2	$7,9 \times 10^1$	Negativo	2	2
AM06	Copacabana 1	$1,0 \times 10^2$	Negativo	0	1
AM07	Copacabana 2	$6,9 \times 10^1$	Negativo	1	1
AM08	Copacabana 3	$1,2 \times 10^1$	Negativo	0	1
AM09	Laranjeiras	$1,7 \times 10^1$	Negativo	2	2
AM10	Botafogo 1	$4,0 \times 10^2$	Negativo	1	1
AM11	Botafogo 2	$8,5 \times 10^1$	Negativo	2	3

A Figura 1 apresenta os grupos identificados pelo Sistema Vitek 2 Compact® com nível de confiança excelente.

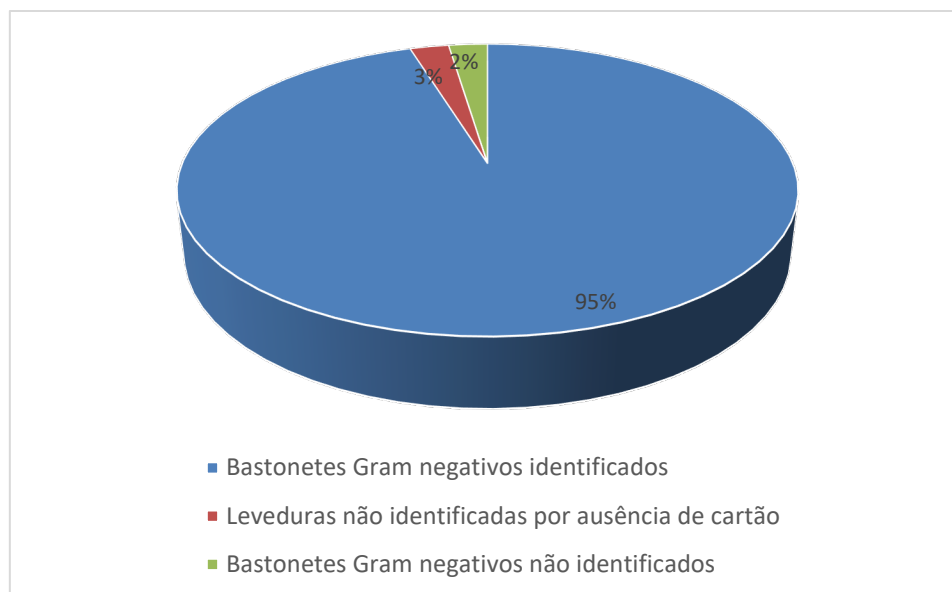


Figura 1: Percentual de identificação pelo Sistema Vitek 2 Compact® com nível de confiança excelente

Combinando a metodologia tradicional com a identificação posterior dos isolados com o sistema de testes bioquímicos automatizados VITEK 2 Compact®, foi verificada a ausência de *E. coli* em todas as amostras analisadas. A Tabela 2 apresenta a identificação dos isolados obtidos a partir do ágar VRBA.

Uma vez que o grupo dos coliformes termotolerantes inclui também microrganismos não pertencentes ao trato gastrointestinal, é comum encontrar microrganismos naturalmente presentes de solo quando se trata de amostras vegetais, devido a seu contato direto com a fonte microbiana. Segundo Franco e Landgraf (2008), o único indicador de contaminação fecal efetivamente válido é *E. coli*. Segundo Santos (2007), em aproximadamente 90% das análises de coliformes termotolerantes,



o microrganismo presente é *E. coli*. Os 10% restantes abrigam, dentre outros microrganismos, algumas espécies dos gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella*, que podem estar associados a plantas (Doyle e Erickson, 2006).

Tabela 2: Identificação de isolados bacterianos obtidos a partir de ágar VRB

Amostra	Caldo EC	Testes bioquímicos para <i>E. coli</i>	Identificação por VITEK 2 Compact®
AM01	(-)	(-)	<i>Enterobacter aerogenes</i> ; <i>Klebsiella ssp pneumoniae</i> ; <i>Raoutella ornithinolytica</i> ; <i>Enterobacter cancerogenus</i>
AM02	(+)	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
AM03	(+)	(-)	<i>Ewingella americana</i>
AM04	(-)	(-)	<i>Pantoea ssp</i>
AM05	(-)	(-)	<i>Pantoea ssp</i> ; <i>Buttiayxella agrestis</i>
AM06	(-)	(-)	<i>Enterobacter gergoviae</i> ; <i>Enterobacter asburiae</i> ; <i>Enterobacter coacae</i> complex; <i>Pateurella testudinis</i> ; <i>Pantoea ssp</i>
AM07	(-)	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> ; <i>Klebsiella oxytica</i>
AM08	(-)	(-)	<i>Raoultella ornithinolytica</i> ; <i>Kluyvera ascorbata</i> ; <i>Serratia marcescens</i> ; <i>Raoultella planticola</i>
AM09	(-)	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>
AM10	(-)	(-)	<i>Enterobacter cloacae</i> complex; <i>Kluyvera ascorbata</i> ; <i>Serratia marcescens</i>
AM11	(-)	(-)	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i> ; <i>Enterobacter cloacae</i> complex; <i>Raoultella ornithinolytica</i>

(-): resultado negativo. (+): resultado positivo

Em 1995, nos Estados Unidos, houve um alerta à população informando que “a elevada contagem de coliformes termotolerantes em certo chá indicava a presença de fezes na bebida”, porém a espécie dominante encontrada foi *Klebsiella pneumoniae* e



algumas espécies de *Enterobacter*, mas não *E. coli*, que seria o único real indicador da presença de fezes no chá (Doyle e Erickson, 2006).

No Canadá houveram dois “recalls” de brotos de vegetais, os quais continham elevadas contagens de coliformes termotolerantes. Os perigos que acompanharam a descrição desses “recalls” indicavam que os microrganismos eram causadores de doença gastrointestinal em humanos. Porém, posteriormente foram identificados como *Klebsiella pneumoniae*, quando, na realidade, essa bactéria é considerada um patógeno oportunista, que age fora do trato intestinal, causando infecções nos tratos urinário e respiratório (Doyle & Erickson, 2006).

Tais relatos sugerem que a determinação de limites para coliformes termotolerantes não seja a mais adequada, uma vez que muitas das identificações obtidas não são consistentes para *E. coli*, sendo este dado de acordo com os obtidos nesse estudo. Das duas amostras positivas para coliformes termotolerantes, nenhuma delas obteve confirmação nos testes bioquímicos automatizados.

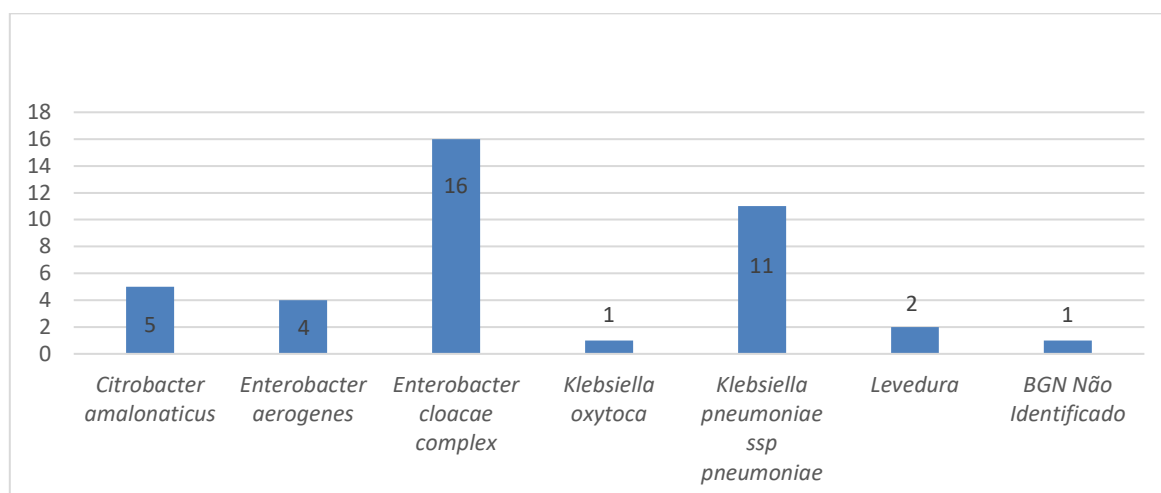
Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Para este patógeno, não há tolerância na amostra analisada devido a sua baixa dose infectante. Por possuírem baixo valor de pH, as polpas de frutas, como a laranja, dificultam a presença ou desenvolvimento de *Salmonella* spp. Segundo Jay (2005), o pH ótimo de crescimento da *Salmonella* é próximo da neutralidade (6,6 a 8,2).

Espécies do gênero *Salmonella* são comumente entéricas, podendo estar presente no solo, água, nos alimentos e nas fezes, contudo o seu habitat natural é o intestino de humanos e animais. As principais fontes de contaminação são carnes, ovos, frutos do mar, leites e derivados (Shinohara et al., 2008).

Em alguns trabalhos onde foram analisados sucos e refrescos de laranja, também não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras (Oliveira et al., 2006; Silveira & Bertagnolli, 2012; Brum et al., 2014). Em relação à couve, corroborando com o presente trabalho, Evangelista (2009) e dos Santos et al. (2012) também não relatam a presença do gênero. Porém, em algumas pesquisas analisando isoladamente apenas suco de laranja ou couve manteiga, foram encontradas contaminações pelo patógeno em questão, estando, portanto, impróprios para consumo (Garcia et al., 2012; Barbosa, 2014; Santos, 2016).

Mesmo com a ausência de colônias típicas, todos os 40 isolados que obtiveram crescimento nos meios seletivos foram identificados, não havendo identificações de *Salmonella* spp. A Figura 2 exibe as identificações dos isolados obtidos em ágar XLD e SS.

Figura 2: Identificação de isolados bacterianos obtidos a partir de meios seletivos e diferenciais (XLD e SS) para *Salmonella* sp.



BGN: Bacilo Gram-negativo

Dentre os resultados obtidos podemos chegar a identificação em nível de espécie de praticamente todos os isolados obtidos, com exceção de duas espécies de bastonete Gram negativos e duas espécies de fungos leveduriformes. Nenhuma das identificações indicam os microrganismos preconizados pela RDC 12, no entanto, podemos encontrar isolados com potencial patogênico que podem trazer malefícios à saúde humana quando em alta contagem, conforme compilação de identificações apresentados na Figura 3.

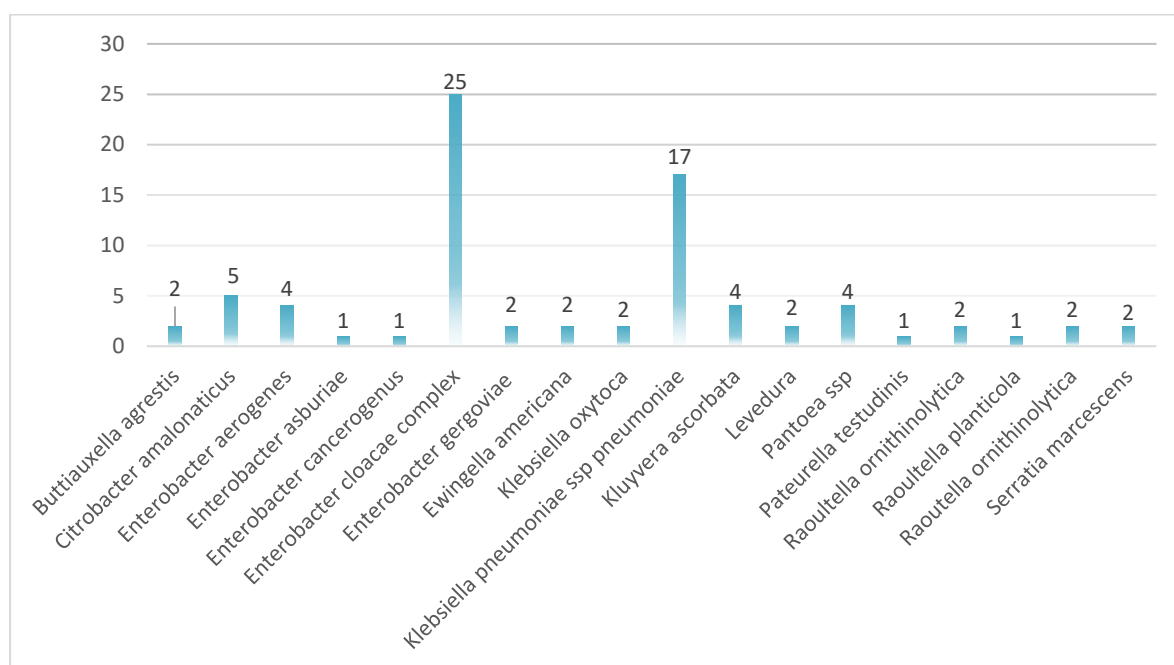


Figura 3: Identificação de todos os isolados obtidos a partir do suco verde

As espécies mais encontradas no suco verde foram pertencentes ao complexo *Enterobacter cloacae* (30,1%), seguido de *Klebsiella pneumoniae ssp pneumonia* (20,5%). O complexo *E. cloacae* compreende seis espécies distintas devido à grande heterogeneidade genética que este grupo possui: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter*



asburiae, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii* and *Enterobacter nimipressuralis* (Mezzatesta et al., 2012).

Em seu estudo, Mezzatesta et al. (2012) confirmaram a ascensão da relevância destes microrganismos majoritariamente identificados como patógenos hospitalares. Até 1970, estas bactérias eram consideradas comensais típicas e nenhuma evidência sugeria que seu significado clínico se estenderia além de infecções oportunistas. Alves (2015) corrobora com estas afirmações, e complementa que membros do complexo *Enterobacter cloacae* podem ser isolados de amostras clínicas e de alimentos, sendo por vezes considerado um patógeno oportunista. No entanto, há grande relevância na associação dessas bactérias com casos de infecções nosocomiais. A presença dessas bactérias em alimentos pode colaborar para o processo de disseminação microbiana, como também para os processos de resistência a antimicrobianos (Davin-Regli e Pagés, 2015).

Os mecanismos patogênicos e fatores que contribuem na doença associada com *E. cloacae* ainda não são entendidos. A capacidade de formar biofilmes e secretar várias citotoxinas são importantes para sua patogenicidade (Krzymińska et al., 2009; Davin-Regli & Pages, 2015) o que pode associá-lo a contaminação de maquinário e a intoxicações.

Se tratando de *Klebsiella* sp., alguns autores confirmam que a colonização do trato gastrointestinal por este microrganismo ocorre em todas as pessoas, que acabam por ser uma importante fonte de transmissão. Estudos têm demonstrado que pelo menos 80% dos pacientes com infecção por *K. pneumoniae* produtoras de β -lactamase de espectro ampliado (ESBL) em unidades hospitalares, tiveram infecções precedidas pela colonização do trato gastrointestinal (Shlaes, 1997; Piroth et al., 1998).



A patogenicidade de *Klebsiella* spp. pode ser atribuída à produção de enterotoxina estável ao calor; à habilidade de metabolizar a lactose; à presença de cápsula ou lipopolissacarídeo; à presença de adesinas, com ou sem fímbrias, que favorecem sua adesão às mucosas, às células epiteliais do trato intestinal, urogenital e respiratório para produzir o processo infeccioso e proteger a bactéria dos fatores bactericidas do soro, acompanhado pela inibição da ativação dos componentes do complemento. A maioria dos isolados clínicos de *K. pneumoniae* é encapsulada e adere in vitro a células intestinais com padrão agregativo (Madson et al., 1994).

Em um estudo de análise microbiológica de suco de laranja, estirpes de *Klebsiella* sp. mostraram seis diferentes perfis de multirresistência, todos apresentando resistência à ampicilina e carbenicilina, além de: Amoxicilina + ácido clavulânico (5,45%); Cotrimoxazol (3,64%); Amoxicilina + ácido clavulânico e cefalotina (1,82%); Amoxicilina + ácido clavulânico e cotrimoxazol (3,64%); cefalotina e cotrimoxazol (1,82%); Amoxicilina + ácido clavulânico, cefalotina e cotrimoxazol (1,82%). O gênero *Klebsiella* apresenta resistência cromossômica a antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, o que explica sua alta resistência a ampicilina e carbenicilina (Oliveira et al., 2006).

Em pesquisa de perfil de resistência microbiano de coliformes encontrados em saladas de restaurantes self-service, foram analisados diversos isolados que apresentaram resistência a antibióticos. No caso de dois isolados de *Serratia* sp., um foi resistente a ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, gentamicina, imipenema e tetraciclina, enquanto outro foi resistente a canamicina, ácido nalidíxico e cloranfenicol, sendo consideradas multirresistentes, o que constitui um perfil de resistência comumente encontrado em amostras clínicas (Junqueira et al., 2008).



4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste estudo mostram que todas as amostras analisadas estavam próprias para consumo conforme a legislação vigente. Porém, de acordo com os testes confirmativos da metodologia tradicional preconizada, quatro amostras estavam em não-conformidade. Após a identificação dos isolados, observou-se que nenhuma das amostras estavam contaminadas com os microrganismos indicadores, alertando para o uso do padrão coliformes termotolerantes para estabelecimento de contaminação de origem fecal em alimentos. A ausência de *Escherichia coli* e *Salmonella* diminui o potencial risco a saúde do consumidor, porém, outros microrganismos com potencial patogênico foram identificados.

Faz-se necessário uma atualização por parte das agências reguladoras no que se diz respeito a identificação microbiana. Observou-se que novas metodologias devem ser aplicadas para que não ocorram “falsos positivos” em relação a microbiota indicadora, tendo em vista que no grupo dos coliformes termotolerantes estão inclusos espécimes que são encontrados corriqueiramente em alimentos de origem vegetal.

Em relação a microbiota associada, são necessárias reformulações nos parâmetros de análise, pois um microrganismo considerado oportunista, dependendo da dose e a imunidade do indivíduo, poderá aumentar o risco potencial à saúde, principalmente para consumidores imunocomprometidos. Seus fatores de virulência e sua resistência a antibióticos tornam-se de grande valia para determinar o potencial patogênico e risco que trazem ao consumidor.

O consumidor procura este tipo de alimento, buscando as características benéficas a saúde. Sendo assim, é necessário um controle rigoroso no processo produtivo, objetivando diminuir a carga microbiana associada a matéria-prima,



evitando consequências danosas tanto à saúde do consumidor quanto à durabilidade do produto, entregando ao público um alimento seguro. Entre as medidas que poderiam ser aplicadas como controle estão a sanitização de equipamentos, matérias-primas e superfícies de contato, além de boas práticas de fabricação, treinamento dos funcionários e fiscalização dos estabelecimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, T. S., Siqueira, A. K., Ferraz, M., Leite, D. S. (2015). Identificação e perfil de sensibilidade de *Enterobacter* spp. isolados de leite bovino cru. *Veterinária e Zootecnia*, 22(1):114-122.

Barbosa, T. A. (2015). Avaliação da qualidade microbiológica de couves minimamente processada comercializada nos supermercados de Brasília. Monografia (Bacharelado em Farmácia). Universidade de Brasília.

Brasil. (2001). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

Brum, D. C. M., Saron, M. L. G., Souza, E. B., Costa, L. M. A. S., Mallet, A. C. T. (2014). Qualidade microbiológica e físico-química de refrescos comercializados nos municípios de Barra Mansa e Volta Redonda-RJ. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde*, 9(4):943-953.

Davin-Regli, A. (2015). *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 6:392.

Dos Santos, A. P. R., Junqueira, A. M. R. (2012). Gestão da qualidade na couve minimamente processada no distrito federal: o caso da agroindústria Machadinho. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 14(4):337-352.



Doyle, M. P., Erickson, M. C. (2006). The fecal coliform assay, the results of which have led to numerous misinterpretations over the years, may have outlived its usefulness. *Microbe*, 4:162-163.

Evangelista, R. M., Vieites, R. L., Castro, P. S., Rall, V. L. M. (2009). Qualidade de couve-chinesa minimamente processada e tratada com diferentes produtos. *Food Science and Technology*, 29(2):324-332.

Forsythe, S. J. (2000). Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed.

Franco, B. D. G. M., Landgraf, M. (2008). Microbiologia dos Alimentos. Editora Atheneu. São Paulo.

Garcia, R. C. G., Santos, D. C., Oliveira, E. N. A., Josino, S. A., Mori, E. (2012). Qualidade microbiológica de sucos in natura comercializados na cidade de Juazeiro do Norte-CE. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 6(1).

Jay, J. M. (2005). Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre: Artmed.

Junqueira, A. R., Sampaio, L. S., Fleming, L. R., Nascimento, J. S. (2008). Diversidade e perfil de resistência a antibióticos de coliformes isolados de saladas comercializadas em restaurantes self-service. *Estudos de Biologia*, 30:70-72.

Krzywińska, S., Mokracka, J., Koczura, R., Kaznowski, A. (2009). Cytotoxic activity of *Enterobacter cloacae* human isolates. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 56(3):248–252.

Madson B., Ofek I., Clegg S., Abraham S. N. (1994). Type 1 fimbrial shafts of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* influence sugar binding specificities of their fimbriae H adhesions. *Infection and Immunity*, 62:843-8.

Mezzatesta, M. L., Gona, F., Stefani, S. (2012). *Enterobacter cloacae* complex: clinical impact and emerging antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(7):887-902.



Nitzke, J. A., Thys, R., Martinelli, S., Oliveiras, L. Y., Augusto-Ruiz, W., Penna, N. G., Noll, I. B. (2012). Segurança alimentar: retorno às origens. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15:2-10.

Oliveira, J. C., Setti-Perdigão, P., Siqueira, K. A. G., Santos, A. C., Miguel, M. A. L. (2006). Características microbiológicas do suco de laranja in natura. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(2):241-245.

Piroth, L., Auber, H., Doise, J. M., Vincet-Martin, M. (1998). Spread of extended spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*: are β -lactamase inhibitors of therapeutic value? *Clinical Infectious Diseases*, 27:76-80.

Santos, M. E. (2016). Análise microbiológica de amostras de suco natural de laranja comercializado em restaurantes da Região Sul do Município de Palmas - TO. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Farmácia, Centro Universitário Luterano de Palmas.

Santos, T. B. A. (2007). Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas comercializadas na cidade de Campinas/SP. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

Shlaes, D. M., Gerding, D. N., John, J. F., Craig, W. A., Bornstein, D. L., Duncan, R. A. (1997). Society for healthcare epidemiology of America and Infectious Disease Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 18:275-91.

Shinohara, N. K. S., Barros, V. B., Jimenez, S. M. C., Machado, E. C. L., Dutra, R. A. F., Filho, J. L. L. (2008). *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 13:1675-1683.

Silva, P. T., Lopes, M. L. M., Valente-Mesquita, V. L. (2006). Efeito de diferentes processamentos sobre o teor de ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na elaboração de bolo, pudim e geleia. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(3):678-682.



Silveira, M. L. R., Bertagnolli, S. M. M. (2012). Avaliação microbiológica e das condições higiênico-sanitárias de comercialização de sucos de laranja in natura. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 23(3):461-466.