

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ERVAS FRESCAS NO
DISTRITO FEDERAL: NO ATACADO E VAREJO

Aluna – Laryssa Souto Portal

Orientadora: Prof.^a Dr^a **Verônica Cortez Ginani**

Co-orientadora: Prof^a Mestre **Roberta Figueiredo**
Resende Riquette

Projeto de pesquisa apresentado à Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Nutrição. Área de concentração em Higiene de Alimentos.

BRASÍLIA
Distrito Federal – Brasil

Julho–2014

Professora orientadora: Verônica Cortês Ginani

Professora co-orientadora: Roberta Figueiredo Resende Riquette

RESUMO

Apesar de existirem poucos estudos, é possível observar a relação da ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e consumo de hortaliças. O agente etiológico mais comum é de origem bacteriana. Dentre as DTA, a salmonelose é a mais frequente. Ademais, as enfermidades ocasionadas por coliformes totais e termotolerantes também requerem grande ênfase, pois causam quadros graves, tendo grande impacto em saúde pública. Com isso, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do manjericão, salsinha, coentro e cebolinha produzido e comercializado no Distrito Federal (DF). Foi realizada uma pesquisa de natureza quantitativa, do tipo experimental, para avaliar o perfil microbiológico de ervas frescas minimamente processadas. O experimento foi realizado na região do Distrito Federal e ocorreu em 3 etapas (seleção e coleta das amostras; ensaios microbiológicos; e, análise estatística) com 12 amostra de hortaliças minimamente processadas (HMP) e os resultados foram comparados com os dados contidos na RDC nº 12 de 12 de janeiro de 2001. As análises microbiológicas foram realizadas para Coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *Salmonella spp.*. Verificou-se que 100% dos Coliformes totais deram < 1.100 NMP/g – de acordo com Berbari, Paschoalino e Silveira (2001), não está elevado; 64,3% (n=9) das amostras apresentaram Coliformes termotolerantes; e, 100% das análises de *Salmonella spp.* deram ausentes. Diante disso, apesar desses vegetais já terem passado por um processo de sanitização, conclui-se que existem falhas em algum dos momentos do cultivo ou manipulação posterior do produto, que fomenta no aumento da quantidade de Coliformes a 45°C.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	pág. 6
2. Metodologia	pág. 8
3. Resultados e discussão	pág. 13
4. Considerações finais	pág. 19
5. Referências Bibliográficas	pág. 20

1. INTRODUÇÃO

Segundo a legislação brasileira, entende-se por Doença Transmitida por Alimento (DTA) aquela ocasionada por um alimento que apresente um agente infeccioso, ou pela toxina que ele poderá gerar (BRASIL, 2001). Os agentes infecciosos podem ser de natureza química, física ou biológica, que penetram no organismo humano através do consumo de alimentos ou água contaminada. Dentre os agentes biológicos os micro-organismos patogênicos são os maiores causadores de DTA (NOTERMANS; VERDEGAAL, 1992).

Nesse contexto, observa-se que no Brasil, o perfil epidemiológico de DTA ainda não é muito conhecido e há poucos estudos sobre esse assunto. Justifica-se o fato, em função da ausência de registros e estatísticas acerca dos possíveis agentes desencadeadores de DTA, dos alimentos que possivelmente podem estar envolvidos e dos aspectos que podem favorecer o desenvolvimento dessas doenças em vários estados e/ou municípios (VAN AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

Apesar da escassez de informações, é possível observar a relação da ocorrência de DTA e consumo de hortaliças. Segundo os dados coletados sobre os surtos ocorridos no Paraná de 1978 a 2000, envolvendo hortaliças, o agente etiológico mais comum é de origem bacteriana, predominantemente resultantes do ciclo de contaminação fecal/oral (VAN AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

A presença de bactérias ocorre comumente em hortaliças adubadas e/ou irrigadas com água contaminada por dejetos fecais (SANTANA et al, 2006). Dentre as DTA, a salmonelose é a mais freqüente (NADVORNY, 2004). Ademais, as enfermidades ocasionadas por coliformes totais e termotolerantes também

requerem grande ênfase, pois causam quadros graves, tendo grande impacto em saúde pública (CVE, 2011).

Tendo em vista os benefícios nutricionais concedidos pela ingestão de hortaliças, seu consumo vem sendo cada vez mais estimulado. Por essa razão, principalmente as hortaliças folhosas, constituem um foco de estudos como veículos de transmissão de patógenos, contribuindo para a disseminação de DTA (FDA, 1998; BUICK; WALCOTT; BEUCHAT, 2013).

Integrando o grupo de folhosos, as ervas frescas devem ser consideradas como fonte de contaminação de outras preparações, por serem utilizadas em vários casos, somente no final do preparo, como item aromático e decorativo. Podem ser comercializadas prontas pra o consumo, integrando assim o grupo das hortaliças minimamente processadas (HMP). Quando disponíveis nessa forma, são muito atraentes para os consumidores à procura de refeições saudáveis e convenientes. No entanto, a segurança microbiológica desses alimentos pode estar comprometida devido à ausência de tratamentos adequados durante o seu processamento (GOMES et al, 2005; BUICK; WALCOTT; BEUCHAT, 2013).

Portanto, a realização de estudos com ensaios microbiológicos torna-se crucial para detectar os patógenos presentes nos alimentos, como é o caso do manjeriço, coentro, salsinha e cebolinha, que são de consumo frequente na dieta do brasileiro. Os resultados dessas análises são relevantes para a saúde pública uma vez que podem fomentar melhorias da qualidade higiênica dos procedimentos manuseio desses alimentos. Possibilita, ainda, maior fiscalização no que diz respeito aos alimentos que já foram cultivados por sinalizar um problema real (SANTANA et al, 2006).

Com base nesses aspectos, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de ervas frescas minimamente processadas produzidas e comercializadas no Distrito Federal de acordo com a legislação RDC nº 12 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

2. METODOLOGIA

A pesquisa consiste em um estudo quantitativo, do tipo experimental, para avaliar o perfil microbiológico de ervas frescas tais como: manjeriço, salsinha, coentro e cebolinha. O experimento foi realizado na região do Distrito Federal e ocorreu em 3 etapas (seleção e coleta das amostras; ensaios microbiológicos; e, análise estatística).

As ervas frescas adquiridas para essa pesquisa envolveram somente as minimamente processadas, ou seja, as embaladas e submetidas a processos de lavagem, picagem e/ou fatiamento e conservação através de um ou mais processos fitossanitários, mantendo suas características organolépticas (LIMA; MARSIGLIA; ARAÚJO, 2009). No final, totalizaram-se 14 amostras, as quais houveram 5 repetições para cada, resultando em 70 análises.

- Seleção e coleta das amostras

Supermercados

Foram identificadas as principais redes de supermercados com maior inferência nos bairros da cidade em relação ao número de lojas. Sendo assim, considerando que os produtos comercializados em cada rede são originados dos mesmos fornecedores, foi selecionada uma loja de cada rede de supermercados, totalizando 4 locais distintos, e realizada a coleta das amostras.

Agroindústrias

Para seleção das agroindústrias foi realizada uma consulta à (EMBRAPA) e (EMATER) que forneceram uma lista de estabelecimentos que produzem

minimamente processados em todo o DF. Em seguida, foi feito o contato por telefone com os responsáveis pelo local para conhecimento sobre os tipos de folhosos produzidos. Com aqueles que possuíam os folhosos incluídos no estudo e aceitaram participar da pesquisa, foi agendada uma visita para coleta das amostras. Ao final, foi incluída apenas uma agroindústria nesse trabalho, considerando a escassez de agroindústrias que fornecem as ervas frescas minimamente processadas que eram foco desta pesquisa.

- Procedimento para coleta das amostras

O procedimento adotado foi similar ao de um consumidor comum, sendo a mercadoria retirada do balcão de distribuição ou caixas plásticas – no caso de agroindústrias, colocada em um carro de compra disponibilizado no local e passado pelo caixa. Contudo, evitou-se qualquer tipo de contaminação pelo responsável pela compra, que calçou luvas plásticas estéreis e no momento que foi entregue pelo funcionário que efetua a cobrança, foi acondicionado em caixa térmica para transporte imediato até o Laboratório de Higiene dos Alimentos do Departamento de Nutrição da UnB.

Salienta-se que as amostras foram adquiridas em embalagem individual e lacrada.

- Ensaio microbiológicos

As condições de assepsia e demais procedimentos necessários para garantir que as amostras não fossem contaminadas foram adotadas conforme

SILVA *et al* (2007). As metodologias utilizadas para Coliformes foram baseadas nas também prescritas por SILVA *et al* (2007). Já para *Salmonella spp.*, usou-se a metodologia utilizada por 3M (2009).

Determinação de Coliformes totais e termotolerantes

Inicialmente, inoculou-se 25g de cada amostra em 225ml de água peptonada 0,1%. Para o teste presuntivo, foi inserido 1ml da alíquota em tubos triplicados para cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), contendo 9ml de Lauryl Sulfato Triptose e um tubo de de Duhran invertido, e incubado em estufa de 35°C por 48 horas. Após detectar os tubos positivo, transferia-se 01,ml dessas alíquotas para o Caldo EC e incubava-se por 24 horas a 45,5°C.

Os resultados de coliformes totais e termotolerantes foram baseados na técnica da contagem do Número Mais Provável (NMP).

Análise de Salmonella spp.

Assepticamente, foi homogeneizado 25g de amostra em 225g de caldo lactosado estéril e incubou-se por 35°C a 37°C por 18 a 22 horas. Após esse período, foi inoculado 0,1ml de cada alíquota em 9,9ml de Caldo Rappaport-Vassilidis (RV) pré-aquecido e incubou-se a 41°C a 43°C por 16 a 20 horas. Após essa etapa, foi retirado 1ml de Caldo RV, o qual foi submetido a fervura por 15 minutos. Por fim, realizou-se o teste bioquímico TECRA de triagem rápida e específica para detecção de *Samonella spp.*.

- Análise estatística

Os resultados foram compilados em um banco de dados feito no *Microsoft*® *Office Excel* 2013 versão 15.0.4623.1003 e analisados usando-se o programa estatístico *SPSS*® versão 17.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A RDC. n° 12 da ANVISA apresenta os padrões microbiológicos para cada grupo alimentar, segundo o risco epidemiológico, com a finalidade de monitorar e registrar esses alimentos. Esses padrões permitem verificar se o alimento está próprio ou não para o consumo humano.

Para as hortaliças frescas, como é o caso do manjericão, salsinha, cebolinha e coentro, essa resolução estabelece que sejam obrigatoriamente realizadas análises para *Salmonella spp.*, que deve estar sempre ausente, e Coliformes a 45°C/g – que são os coliformes termotolerantes, os quais devem estar sempre abaixo do limite máximo permitido (10^2 NMP/g).

A Tabela 1 a seguir apresenta os resultados das amostras avaliadas quanto ao número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes e a presença ou ausência de *Salmonella spp.*

Tabela 1. Ocorrência de Coliformes totais, termotolerantes e *Samonella spp.* em ervas frescas minimamente processadas no DF.

Amostras	N ^a	Coliformes	Coliformes	<i>Salmonella</i> <i>spp.</i>
		totais NMP/g ^b	termotolerantes n (%) ^c	
Salsinha	3	1100	2 (66,7%)	Ausente
Cebolinha	5	915,6	3 (60%)	Ausente
Coentro	4	1021	3 (75%)	Ausente
Manjericão	2	940	1 (50%)	Ausente
Total	14	994,1	9 (64,3%)	Ausente

(a) Número de amostras analisadas; (b) Média de NMP de coliformes totais/grama de alimento; (c) Número e porcentagem de amostras impróprias ao consumo humano. Os dados foram analisados de acordo com o parâmetro contido na RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001.

A RDC nº 12/2001 não descreve valores para coliformes totais, mas, segundo Berbari, Paschoalino e Silveira (2001), as contagens de coliformes totais >1.100 NMP/g são consideradas elevadas, visto que esses vegetais já sofreram algum tipo de sanitização. Com isso, baseado nesse autor, os resultados encontrados não estão acima dos valores observados na literatura, não indicando falhas higiênico-sanitárias aparentes (ASSIS; UCHIDA, 2011).

Já os coliformes a 45°C (termotolerantes) foram encontrados na quantidade acima de 10² NMP/g em 64,3% das HMP avaliadas. Esse resultado se difere ao encontrado na pesquisa de Assis e Uchida (2014), mas se assemelha aos resultados de Oliveira *et al* (2011) e Paula *et al* (2009).

Na pesquisa realizada por Paula *et al* (2009), um dos locais utilizados para compor a amostra foi a cidade de Brasília, tornando-se um bom parâmetro para comparação dos dados encontrados nesse estudo. De acordo com essa autora, as HMP de Brasília apresentaram resultados abusivos no que diz respeito a contaminação por Coliformes a 45° C.

Na análise de *Salmonella spp.*, não foi encontrado nenhum resultado positivo, o mesmo observado na pesquisa de Rosa (2002), Fonseca (2009) e Almeida & Resende (2012).

Em uma pesquisa realizada por Sant'Ana *et al* (2011), de 512 amostras de vegetais minimamente processados analisados, apenas 4 deram positivo para *Salmonella spp.*, corroborando com a hipótese de que essa bactéria é muito difícil de ser encontradas em HMP.

O percentual indesejável de coliforme a 45°C pode ser utilizado para indicar o armazenamento em temperatura inadequada, além da contaminação fecal (FONSECA, 2009).

Coliforme total é toda bactéria aeróbia ou anaeróbia, gram negativa, não esporulada, na forma de bastonete, que fermenta lactose, produzindo gás. Nessa classificação, estão inclusos muitos microorganismos semelhantes, mas que diferem nas características bioquímicas, sorológicas e no seu habitat. Classificam-se em: *Escherichia*, *Aerobacter* e *Citrobacter* (SILVA et al, 2009 apud CETESB, 1997).

Em geral, a presença de coliformes totais em quantidades significativas no alimento indica condições higiênicas precárias durante o cultivo ou manipulação posterior (PAULA et al, 2009). Além disso, é um bom indicador de contaminação fecal, ou seja, os coliformes termotolerantes – subgrupo dos coliformes totais, são utilizados para detecção de poluição advinda de dejetos fecais de animais de sangue quente. Dentre estes, a *Escherichia coli*, constitui um dos microorganismos analisados na presente pesquisa, por estar relacionado com casos/surtos de DTA resultante do consumo de vegetais (SILVA et al, 2009; HOBBS; ROBERTS, 1992; FRANCO; LANGRAF, 1996; KASNOWSKI, 2004 apud LEITE et al, 1988; FLORENTINO, 1997; COSTA et al, 2000).

Essa espécie de bactéria foi descrita pela primeira vez pelo Dr. Theodor Escherich em 1885 quando tentou isolar o agente etiológico da cólera (FRANCO, 2002). Seu primeiro nome foi *Bacterium Coli commune* visto que seu habitat preferido é o cólon do Homem e dos animais (GERMANO; GERMANO, 2001).

Os surtos ocasionados por *E. coli* são considerados muito graves e, nos últimos tempos, têm sido reconhecidos como um dos microorganismos mais

envolvidos nesses eventos, principalmente em países subdesenvolvidos (KASNOWSKI, 2004). As infecções resultantes de sua presença em alimentos consumidos podem ser somente em função da colonização da mucosa ou podem ser difundidas em todo o organismo. Como complicações podem ocorrer quadros de meningite e infecções gastrointestinais (NATARO; KAPER, 1998).

O principal sintoma da toxinfecção causada pelo *E. coli* é a diarreia (LEVINE, 1987). Contudo, o *E. coli* pode se comportar de diferentes maneiras, dependendo do indivíduo. Pode agir como um microorganismo oportunista, o qual gera diversas doenças no hospedeiro susceptível e infecções em órgãos ou tecidos normalmente estéreis. Pode atuar também como um patógeno especializado, causando infecções em hospedeiros sadios (SOUZA, 2006)

Com relação ao mecanismo de patogenicidade, o *E. coli* pode atuar de diferentes maneiras através de toxinas, adesinas e invasibilidade, podem limitar a função das células epiteliais intestinais, produzindo lesões próprias (redução da borda em escova) ou adesão e elevação (TRABULSI et al, 2002). Essas bactérias podem provocar profundas alterações no citoesqueleto das células epiteliais, com destruição das microvilosidades e acúmulos de actina no local da adesão (FRANCO, 2002).

A presença de coliformes nos alimentos indica a possibilidade de ocorrência de enteropatógenos, como é o caso da *Salmonella spp.* (ASSIS; UCHIDA, 2014).

A *Salmonella spp.* é um microorganismo frequentemente encontrado nas fezes de alguns animais, principalmente os destinados à alimentação, em virtude das hortaliças adubadas e/ou irrigadas com água contaminada por dejetos fecais (NOTERMANS; VERDEGAAL, 1992). A contaminação fecal-oral é a mais frequente (SANTANA et al, 2006). A maior incidência de salmonelose, ou também chamada

de infecção entérica, ocorre em população cuja densidade populacional é elevada e encontra-se em precária condição higiênico sanitária e socioeconômica (SHINOHARA et al, 2008).

O mecanismo de patogenicidade da infecção entérica ocorre a partir da entrada do micro-organismo na camada epitelial do intestino e chegada na lâmina basal (local onde o epitélio se ancora), favorecendo na multiplicação do patógeno. São fagocitados por macrófagos e monócitos, gerando uma resposta inflamatória em função da hiperatividade do sistema reticuloendotelial. Essa infecção fica restrita à lâmina própria, por isso, raramente progridem para septicemia ou infecção sistêmica.

Além disso, essa resposta inflamatória gera um aumento na produção de prostaglandinas, que estimulam a adenilciclase, resultando em maior produção da secreção de água e eletrólitos e, conseqüentemente, provocando diarreia aquosa. São sintomas muito freqüentes também as dores abdominais, febre baixa e vômito. Os sintomas duram de 12 a 36 horas, podendo permanecer por até 72 horas (SHINOHARA et al, 2008).

Em idosos, crianças ou imunocomprometidos, a atenção deve ser maior, visto que a doença pode ser fatal devido à menor resistência às infecções (PINTO; CARDOSO; VANETTI, 2004).

Nesse contexto, é importante destacar a diferença entre infecção, intoxicação e toxinfecção. Infecção é uma doença causada pelo consumo de alimentos contaminados com micro-organismos vivos patogênicos, como *Salmonella spp.*. A intoxicação é uma enfermidade causada pela ingestão de alimentos que apresentam a toxina ou o veneno produzido por bactérias ou bolores, como a enterotoxina do *Staphylococcus*. A toxinfecção, por sua vez, é uma

doença ocasionada pelo consumo de alimentos que possuem uma quantidade considerável de microorganismos patógenos, que são capazes de produzir toxinas quando eles são ingeridos, que são responsáveis pela enfermidade. Como é o caso do *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2005).

Os alimentos contaminados aparentemente não apresentam alterações e seu sabor e odor são normais, por isso, o consumidor possui dificuldade em diferenciar o alimento contaminado que consumiu dentre as últimas refeições. Diante disso, diagnosticar uma DTA torna-se mais complexo. Ademais, muitos casos de DTAs não são notificados, pois seus sintomas se parecem com gripe ou náuseas e vômitos (VAN AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006 apud FORSYTHE, 2000). E, como essas doenças normalmente não requerem hospitalização, a maioria dos casos é subestimada (SHINOHARA et al, 2008).

Por fim, salienta-se que os resultados dessa pesquisa serão enviados para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em forma de relatório para que sejam analisadas e organizadas medidas educativas para os produtores e trabalhadores da agroindústria, supermercados e comunidade. Essas medidas deverão conter as medidas higiênicas e sanitárias desde a produção até o consumo de hortaliças, objetivando reduzir e/ou eliminarem os possíveis patógenos de importância na saúde pública.

Na esfera governamental pode-se inferir que os dados coletados, por sua vez, poderão ser utilizados estrategicamente na formulação de ações para mitigar a incidência de DTA como problema de saúde pública. Soma-se a possibilidade de prestação de serviço para a comunidade com o estabelecimento de um protocolo de rotina para a avaliação de contaminação alimentar, que poderá ser utilizado para outros alimentos e da efetividade dos meios de desinfecção.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização deste trabalho, foi possível verificar que houve presença de Coliformes a 45°C acima do limite permitido pela legislação na maioria das amostras analisadas, indicando que se encontram impróprias ao consumo humano. Com isso, cabe destacar que existem falhas em algum dos momentos do cultivo ou manipulação posterior, como o uso de águas poluídas, temperaturas inadequadas, esterco animal como adubo ou falhas no processo fitossanitário.

A posterior divulgação desse trabalho em artigo científico, apresentação em Congressos de referência e a publicação em periódicos especializados, irá viabilizar o acesso de toda a comunidade científica às informações produzidas, e consequente reprodução das técnicas desenvolvidas. Além disso, esse estudo também será útil para a ANVISA e para o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), já que ele poderá servir de subsídio para a maior fiscalização desse tipo de produto e melhora da Boas Práticas Agrícolas. Para a população, esse trabalho poderá influenciar na escolha entre a aquisição de um produto *in natura* ou minimamente processado, já que esses últimos são mais caros e muitos não estão sendo fornecidos com a qualidade microbiológica adequada para serem consumidos sem higienização.

Por fim, conclui-se que pesquisas desse cunho continuem sendo realizadas visto a relevância da ingestão de alimentos contaminados no surgimento de DTA.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.G., RESENDE A. **Análise microbiológica em alfaces (*Lactuca sativa* L.) e couves (*Brassica oleracea* L.) minimamente processadas e comercializadas em Brasília – DF.** SaBios: Rev Saúde e Biol. 7(3):52-9, 2012.

Disponível em:
<<http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/991/463>>.

Acesso em 26 de junho de 2014.

ASSIS, L.L.R., UCHIDA, N.S. **Microbiological Quality Analysis of Minimally Processed Vegetables Marketed in Campos do Mourão, PR.** Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR. Vol.5,n.3,pp.17-22, 2014. Disponível em:

< http://www.mastereditora.com.br/periodico/20140131_171442.pdf >. Acesso em:

26 de junho de 2014

BERBARI S.A.G., PASCHOALINO J.E., SILVEIRA N.F.A.. **Effect os chlorine in the washing water for disinfection of minimally processed lettuce.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, 21 (2), 197 – 201, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC. n° 12. **Hortaliças, legumes e similares, incluindo cogumelos (fungos comestíveis).** 2 de jan., 2001. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 20 de maio de 2013

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável.** Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 236p. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/05_1109_M.pdf>. Acesso em: 25 de maio de 2013

BUICK, J.W. WALCOTT, R.R. BEUCHAT, L.R. **Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables.** APS Net, Feature Story. Jan – Feb, 2013.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. **Síndrome hemolítico-urêmica e *Escherichia coli* 0104:H4 e o surto na Alemanha.** São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/html/hidrica/IF11_EcoliO104h4PR.pdf>. Acesso em: 21 de maio de 2013

FONSECA, F.G. **Perfil da contaminação de hortaliças minimamente processadas comercializadas no Distrito Federal.** Brasília: UnB, 2009. 33p. Tese (Mestrado) – Centro de Excelência em Turismo, Universidade de Brasília, Brasília, 2009. Disponível em: <http://bdm.bce.unb.br/bitstream/10483/1027/1/2009_FlaviaGodinhoFonseca.pdf>. Acesso em: 26 de junho de 2014

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Guideto Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables.** Department of Agriculture.

Centers for disease control and prevention, 1998. Disponível em: <<http://www.fda.gov.br>>. Acesso em: 08 de junho de 2013

FRANCO, B. D. G. M.; LANGRAF, M. **Microorganismos patogênicos de importância em alimentos**. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996, cap. 4, p. 33 – 82, 182p.

FRANCO, R. M. ***Escherichia coli*: Ocorrência em Suínos Abatidos na GrandeRio e sua Viabilidade Experimental em Lingüiça Frescal Tipo Toscana**. Niterói: UFF, 2002. 153p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2002. Disponível em: <http://www.uff.br/var/www/htdocs/higiene_veterinaria/teses/robson_franco_completa_doutorado.pdf>. Acesso em: 27 de maio de 2013

GERMANO, M. I. S; GERMANO, P. M. L. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001, 629p, parte 12, p. 217 – 227.

GOMES, C. A. O et al. **Hortaliças minimamente processadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/114310/1/00076170.pdf>>. Acesso em: 22 de junho de 2014

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e Controle Higiênico – Sanitário de Alimentos**. São Paulo: Varela. Parte I, cap 3, p. 25 – 47, 1992.

KASNOWSKI, M. C. ***Listeria Spp., Escheria coli: Isolamento, Identificação, Estudo Sorológico e Antimicrobiano em Corte de Carne Bovina (alcatra) Inteira e Moída.*** Niterói: UFF, 2004. 110p. Tese (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004. Disponível em: <http://www.uff.br/var/www/htdocs/higiene_veterinaria/teses/maria_kasnowski_completa_mestrado.pdf>. Acesso em: 27 de maio de 2013

LEVINE, M. M. ***Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent.** Journal of Infectious Diseases, v. 155, p. 377-389, 1987. Disponível em: <<http://jid.oxfordjournals.org/content/155/3/377.short>>. Acesso em: 27 de maio de 2013

LIMA, L.R., MARSIGLIA, D.A.P., ARAÚJO, E.S. **Guias para gerenciamento de risco sanitários em alimentos.** São Paulo, 2009. Disponível em: <http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guias_para_gerenciamento_riscos_sanitarios_em_alimentos.pdf>. Acesso em: 16 de junho de 2014

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D. M. S.; SCHMIDT, V. **Ocorrência de *Salmonella spp.* em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000.** Acta scientiae veterinariae. Porto Alegre, RS. Vol. 32, n. 1 (2004), p. 47-51. Disponível em: <<https://www.repositorioceeme.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/19909/000460638.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 21 de maio de 2013

NATARO J. P.; KAPER, J. **Diarrheogenic *Escherichia coli***. Clinical Microbiology Reviews, v.11, p. 142-201, 1998. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/content/11/1/142.short>>. Acesso em: 26 de maio de 2013

NOTERMANS, S.; VERDEGAAL, A. H. **Existing and emerging foodborne diseases**. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 15, p. 197-205, 1992. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160592900499>>. Acesso em: 25 de maio de 2013.

OLIVEIRA M.A. *et al.* **Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil**. Food Control 22 – 1400 e1403, 2011. Disponível em <<file:///C:/Users/Lary/Downloads/1-s2.0-S095671351100079X-main.pdf>>. Acesso em: 26 de junho de 2014

PAULA, N. R. F. *et al.* **Qualidade de produtos minimamente processados e comercializados em gôndolas de supermercados nas cidades de Lavras - MG, Brasília - DF e São Paulo - SP**. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, n. 1, Feb. 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542009000100031&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 de junho de 2014

PINTO, U. M.; CARDOSO, R. R.; VANETTI, M. C. D. **Detection of *Listeria*, *Salmonella* and *Klebsiella* in a hospital food service**. Revista de Nutrição, v. 17,

n. 3, p. 319-326, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732004000300005&script=sci_arttext>. Acesso em: 26 de maio de 2013

ROSA, O.O. **Microbiota associada a produtos hortícolas minimamente processados comercializados em supermercados**. Lavras: UFLA, 2002. 202p. Tese (Doutorado) – Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002. Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=ad&id=414729&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22ROSA,%20O.O.%22&qFacets=autoria:%22ROSA,%20O.O.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: 26 de junho de 2014

SANTANA, L. R. R. et al. **Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces**. Ciênc. Tecnol. Aliment, v. 26, n. 2, p. 264-269, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30171.pdf>>. Acesso em: 21 de maio de 2013

SHINOHARA, N. K. S. et al. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos**. Ciência & Saúde Coletiva 13(5) 1675-1683, 2008. Disponível em: <http://bvs.panalimentos.org/local/File/BOL_ABRIL_2010_Arq_Bras_Med_Vet_Zootec_Salmonella_spp_importante_agente_patogenico_veiculado_alimentos2010.pdf>. Acesso em: 25 de maio de 2013

SILVA, M. T. M. et al. **Qualidade Microbiológica da Água dos Bebedouros do IFCE – Campus Sobral: Coliformes Totais e Fecais**. IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. Belém – PA,

2009. Disponível em: <http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/55_3586_1536.pdf>. Acesso em: 26 de maio de 2013.

SILVA, N. et al. **Manual de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 ed. – São Paulo: Livraria Varela, 2010.

SOUSA, C. P. **Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos**. Rev At Prim Saúde, v. 9, n. 1, p. 83-8, 2006. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nates/files/2009/12/Seguranca.pdf>>. Acesso em: 26 de maio de 2013

TRABULSI L. R. et al. **Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli***. Emerging Infectious Diseases, v. 8, p. 508-513, 2002. Disponível em: <<http://europepmc.org/articles/PMC2732489/reload=0;jsessionid=rVCQNUTDDuD4tL36JGeI.0>>. Acesso em: 27 de maio de 2013

VAN AMSON, G.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L.. **Levantamento de dados epidemiológicos relativos às ocorrências/surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná–Brasil, no período de 1978 a 2000**. Ciênc Agrotec, v. 30, p. 1139-1145, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v30n6/a16v30n6.pdf>>. Acesso em: 21 de maio de 2013.