



Avaliação da qualidade microbiológica dos panos de prato utilizados em açougues de Londrina e Região

Microbiological quality assessment of dish towels used in butcheries in Londrina and the Region

Giovanna Caroline Galo Martins¹, Miriam Dibo², Isabella Pissinati Marzolla³, Gerson Nakazato⁴, Wilmar Sachetin Marçal⁵.

Resumo: Diversos casos de doenças transmitidas por alimentos são notificadas anualmente no estado do Paraná. Quase 100% dessas toxinfecções alimentares são causadas por bactérias. A conscientização dos manipuladores de alimentos sobre higiene pessoal, do ambiente e dos utensílios de trabalho, é imprescindível devido as diversas formas de riscos de contaminação dos alimentos que estão sendo manipulados. O objetivo deste trabalho foi investigar quais agentes microbiológicos estão presentes nos panos de prato, verificar a presença da *Escherichia coli*, e os potenciais riscos microbiológicos que manipuladores e consumidores podem estar expostos no dia-a-dia, e por fim demonstrar qual a responsabilidade dos manipuladores de alimentos na propagação destes agentes. Foram realizadas colheitas em 6 açougues de Londrina e região. Essas colheitas foram efetuadas no período de setembro de 2019 a março de 2020, por meio da técnica de *swab test*, totalizando 11 amostras que foram posteriormente analisadas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Estadual de Londrina. Os testes realizados foram: bioquímico para identificação das colônias e antibiograma apenas amostras positivas para *Escherichia coli*. Foram identificadas 27 colônias de enterobactérias, destas, 3 amostras de *Escherichia coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana e apresentaram sensibilidade intermediária a dois importantes antibióticos, cefotaxima e cefazolina. Além disso, o trabalho demonstrou a necessidade de maior enfoque e que sejam trabalhados de formas inovadoras os treinamentos com relação as boas práticas de fabricação, tanto pela equipe técnica responsável, como pelos órgãos de fiscalização e vigilância sanitária.

Palavras-chave: consumidor, manipulação, resistência bacteriana, saúde.

Abstract: Several cases of foodborne diseases are reported annually in the state of Paraná. Almost 100% of these foodborne infections are caused by bacteria. The awareness of food handlers about personal hygiene, the environment and work, is essential due to the various forms of risk of contamination of the food being handled. The objective of this work was to investigate which microbiological agents are present in the dish towels, to verify the presence of *Escherichia coli*, and thus to identify the potential microbiological risks that manipulators and consumers may be exposed to on a daily basis, and finally demonstrated which the responsibility of food handlers in spreading these agents. Collections were carried out in 6 butchers in Londrina and region. These collections were carried out from September 2019 to March 2020, using the swab test technique, totaling 11 that were subsequently analyzed at the Microbiology Laboratory of the Biological Sciences Center of the State University of Londrina. The tests realized were: bacterial and biochemical sensitivity for identification of colonies, and

antibiogram only for the positives results for *Escherichia coli*. 27 colonies from enterobacterias were identified, among these, 3 of *Escherichia coli* were subjected to the antimicrobial sensitivity test and intermediate sensitivity to two important antibiotics, cefotaxime and cefazolin, in addition to this the necessary work with a greater focus and that worked in innovative ways the training and information regarding good manufacturing practices, both by the responsible technical team, as well as by the health inspection and surveillance bodies.

Keywords: consumer, manipulation, bacterial resistance, health.

^{1,3} Discente do Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: giovannamartins95@hotmail.com (correspondência); isabellapissinati@hotmail.com.

²Discente do Mestrado de Pós Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina. E-mail: miriamdibo@gmail.com;

⁴Prof.º Dr.º do Departamento de Microbiologia do Centro de Biologia da Universidade estadual de Londrina. E-mail: gnakazato@uel.br.

⁵Prof.º Dr.º do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade estadual de Londrina. E-mail: wilmar@uel.br.

Introdução

O termo “Segurança Alimentar” teve origem a partir da Segunda Guerra Mundial onde mais da metade de toda Europa sofria com a falta de alimento e com a dificuldade na produção desses alimentos (SILVA, 2012). No Brasil por sua vez, Marmentini, Alvarenga e Ronqui (2010) descreveram, com bastante propriedade, a legislação número 11.346 de 15 de setembro de 2006, que deu origem ao Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional –SISAN. O autores relataram que é direito de todos o acesso de forma contínua e regular aos alimentos de boa qualidade e em quantidade adequada, ainda mencionaram que esse direito não pode comprometer o acesso a outras necessidades básicas, devendo acontecer de maneira sustentável com a sociedade, com a cultura, com o

ambiente e a economia do país. De acordo com Silva (2012), o termo “Segurança Alimentar” deve ser utilizado nas seguintes condições: conforme descrito pela FAO – Food and Agriculture Organization da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, quando o alimento é fornecido a toda população de forma segura, nutritiva e em quantidade suficiente para todos de maneira que haja uma vida ativa e saudável, e, associada ao termo “Food Safety”, no qual o alimento é fornecido de forma segura e com garantia de qualidade.

A qualidade de um alimento está diretamente relacionada com o controle das contaminações físico - química e biológica. Quando qualquer uma destas contaminações, ou mais de um desses fatores estiverem presentes no alimento, pode culminar em uma DTA (Doença

Transmitida por Alimento) para quem for consumir desses alimentos. A DTA engloba todas as toxinfecções causadas por microrganismos como bactérias, vírus, protozoários, fungos, agentes químicos, substâncias tóxicas de origem animal e vegetal que possam estar presentes e que são indesejadas. Em razão da complexidade dos fatores que afetam esta questão, é importante o acompanhamento da segurança alimentar em todos os processos do alimento, como a industrialização, processamento, transporte e até mesmo na fase final e chegada a mesa do consumidor. Desta forma, atendendo a legislação em vigor, e devido ao crescimento exponencial dos serviços de fornecimento de alimento, e da exigência do consumidor final, são necessários os cuidados através do ensino adequado de como se procede a higiene pessoal, do ambiente e dos utensílios, em especial para os manipuladores que participam de todos os processos de manipulação dos alimentares (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; SILVA, 2012).

De acordo com as orientação da portaria RDC 216 de 15 de setembro de 2004, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e da Portaria 368, de 04 de setembro de 1997 do Ministério de Agricultura e do Abastecimento, a secagem das mãos, depois de higienizadas,

devem ser realizadas em material de papel descartável e não reciclável; o local de trabalho onde se manipula os alimentos deve possuir lavatórios exclusivos e de fácil acesso aos manipuladores, e ainda em número suficiente para a quantidade de manipuladores que ali trabalham. Além disso, os sabonetes disponíveis para a higienização devem conter características específicas, além de *dispenser* de papel toalha e com acionamento sem contato manual para evitar contaminação posterior.

Nos locais onde se manipulam alimentos são utilizados métodos para identificação do nível de contaminação, e esses testes servem de parâmetro pra verificar como está sendo executado o controle de qualidade dos alimentos. Um dos parâmetros que são avaliados é a quantidade de coliformes no ambiente e utensílios, pra verificar a contaminação de origem fecal. Os coliformes são bactérias da família *Enterobacteriaceae*, e dentre elas a bactéria do gênero *Escherichia coli* é a principal indicadora se há contaminação fecal, pois ela é exclusivamente de origem fecal (SCHUROFF et al., 2014; MACEDO et al., 2020). A *Escherichia coli* geralmente está associada as infecções intestinais em adultos e crianças, por isso são denominadas como *E.coli* diarreicogênica (ETEC). Mas também pode ser dividida em diferentes patotipos:

E. coli enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga ou enterohemorrágica (STEC/EHEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC). Esses patótipos são muito importantes nos casos de infecções humanas porque podem causar desde problemas gastrointestinais, a quadros mais graves como colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (SHU) e de insuficiência renal aguda e crônica (SCHUROFF et al., 2014).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), os utensílios utilizados como tábuas de carne, serra fita, caixas plásticas, talheres, pano de prato, entre outros, participam aproximadamente de 16% das contaminações relacionadas as doenças transmitidas por alimentos, enquanto que os manipuladores são responsáveis por 26% dos surtos de doenças bacterianas de origem alimentar, sendo que as mãos são um dos principais veículos de transmissão microbiológica. Se os manipuladores de alimentos violarem as instruções básicas de higienização, o risco de contaminação dos alimentos, dos utensílios e ambiente de trabalho, podem aumentar consideravelmente (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003; SANTOS et al., 2011). As bactérias tem capacidade de aderir as superfícies de contato dos equipamentos e utensílios, em especial aqueles que possuem características

absorvíveis como tecidos, madeiras, ou que tenham fissuras e frestas. Estes materiais ou superfícies servem como meio e acúmulo de secreções, desta forma diferentes autores sugeriram a mudança dos materiais utilizados como utensílios de manipulação de alimentos, e ainda o desenvolvimento de novos produtos e protocolos de higienização dessas superfícies (AGUIAR et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2007; PINHEIRO; KOURI; MELLO, 2010).

De acordo com o Centro de Controle de Doenças Americana, dos Estados Unidos, as bactérias são responsáveis por 70% dos surtos e 95% dos casos de toxinfecção alimentar (ANDRADE; SILVA; BRABES, 2003). Baseado nesta informação e no fato de que as doenças transmitidas por alimentos podem causar diversas alterações metabólicas como diarreias, vômito, dores de cabeça, febre, desconforto abdominal e dependendo do quadro infeccioso, os sinais clínicos variam e podem-se agravar para meningite, alterações renal e hepática (Passos et al., 2008), não sobram dúvidas da grande importância que as bactérias possuem nos surtos de origem alimentar. Posto isto, e considerando as informações relatadas na literatura sobre contaminação do ambiente e utensílios como potencial risco de contaminação alimentar, este

trabalho teve como objetivo investigar quais agentes microbiológicos estão presentes nos panos de prato de 6 açougues de Londrina e região, verificar a presença da *Escherichia coli*, e assim identificar os potenciais riscos microbiológicos que manipuladores e consumidores podem estar expostos no dia-a-dia, e por fim, demonstrar qual a responsabilidade dos manipuladores de alimentos na propagação destes agentes.

Materiais e Métodos

Esta pesquisa foi realizada com parceria entre a Universidade Estadual de Londrina (UEL), Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias e Laboratório de Bacteriologia do Centro de Ciências Biológicas (CCB), e do Departamento de Vigilância Oficial do município de Londrina – PR. As colheitas deste trabalho foram realizadas em 6 açougues localizados no município de Londrina, Cambé e Sertãozinho, no período de setembro de 2019 a março de 2020. Os estabelecimentos foram incluídos nesse estudo considerando a concordância dos proprietários, assinatura de termo de liberação para colheita e fiscalização oficial da Vigilância Sanitária do município.

A colheita do material foi realizada por uma pessoa treinada e capacitada em boas práticas de manipulação e técnica

para colheita do material nos 6 estabelecimentos. Os estabelecimentos A, B e C foram classificados como grupo 1, e os estabelecimentos D, E e F foram classificados como grupo 2. Os açougues possuíam diferentes níveis estruturais e de boas práticas de manipulação, sendo o grupo 1 classificado como nível elevado e possuía veterinário responsável (RT) e o grupo 2 com características inferiores de estrutura e sem (RT). Em todas haviam a manipulação, fabricação e comercialização de produtos cárneos de diferentes espécies animais (aves, suínos e bovinos).

O material escolhido para colheita das amostras foi o pano de prato de tecido de algodão, por ser um item utilizado na higienização do ambiente, equipamentos e mãos dos manipuladores. Em cada estabelecimento um pano de prato foi escolhido de forma aleatória, cuja colheita superficial das amostras foi realizada por meio da técnica de esfregação de superfície com “Swab Test” (ABNT, 1998). A pessoa que realizou a colheita fez o uso obrigatório de EPI’s, a fim de evitar a contaminação do material colhido. Todos os swabs para colheita foram umedecidos em solução diluente BHI - infusão Cérebro coração (Difco®,USA) antes de iniciar o procedimento (Figura 1A).

Em cada pano de prato foi delimitado uma metragem aproximada de

62,5 cm³, respectiva às distâncias entre os dedos polegar e indicador sempre na região central do pano (Figura 1B). Em seguida eram realizadas fricções no pano de prato com uma pressão constante. O swab era posicionado em uma angulação de 30 graus e realizando giro completo de 180 graus, com movimentos da esquerda para a direita, e em seguida da direita para a esquerda, e assim consecutivamente, totalizando quatro movimentos contínuos.

Por fim, os swabs eram conservados em tubos com caldo BHI de 5ml cada, armazenados em caixa de isopor simples em temperatura ambiente, e imediatamente transportados ao Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia do CCB/UEL, e acondicionados em estufa bacteriológica a 37°C por 18 a 24 horas.

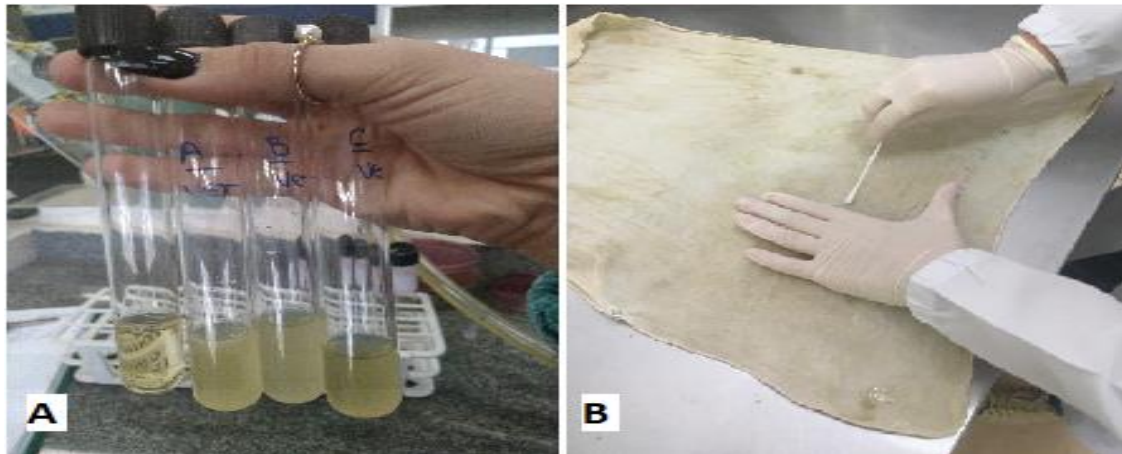


Figura 1: A – Tubos de coletas contendo caldo BHI; B- Pano de prato durante coleta da amostra microbiológica. Imagens: arquivo pessoal.

No laboratório de bacteriologia, os swabs foram removidos dos tubos contendo caldo BHI e semeados em placas contendo ágar MacConkey (Neogen®) e ágar MacConkey acrescido dos antibióticos Ciprofloxacina e Cefotaxima, para crescimento bacteriano e possível seleção de bactérias resistentes e em Ágar Sabouraud (Difco®, USA) para identificar crescimento fúngico. Para seleção

específica de enterobactérias como *Salmonella* e *Shigella*, foi necessário a realização do teste de imersão em caldo Rappaport-Vassiliadis (Difco®, USA). Os resultados positivos para enterobactérias que apresentaram turbidez do caldo Rappaport-Vassiliadis, foram semeados posteriormente em ágar verde brilhante e Desoxicolato-lisina-xilose (Kasvi®). Estes testes foram feitos para a seleção e

isolamento de enterobactérias gram-negativas em especial a *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. Todas as amostras analisadas precisaram ser submetidas a incubação em estufa bacteriológica, em 37°C por 18 a 24 horas.

Após as colônias bacterianas serem isoladas, as amostras foram submetidas à identificação bioquímica para classificação de gram-negativas, dentro da família *Enterobacteriaceae* de acordo com a metodologia de identificação descrita por Koneman (2008), Foram utilizados os meios EPM que avalia a fermentação de glicose, produção de gás, produção de H₂S, hidrólise da uréia e desaminação da fenilalanina, MILI que testa motilidade, descarboxilação da lisina e produção de indol e o teste Citrato de Simmons que avalia a utilização do citrato como única fonte de carbono. Posteriormente foram incubados a 37°C por 24 horas. As amostras positivas para *Escherichia coli* foram submetidas ao teste de sensibilidade bacteriana por meio do antibiograma de acordo com as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018), pelo método de disco difusão em ágar. Foram testados os seguintes antimicrobianos (Laborclin® - BR): tetraciclina (30µg), ciprofloxacina(5µg), cefotaxima (30), gentamicina (10µg),

cloranfenicol (30µg), enrofloxacina(05 µg), azetronam(30 µg), cefazolina (30µg), cefalexina(30 µg), imipenem(10 µg), ceftazidima(30µg), cefepime(30µg) e sulfazotrim (25 µg).

Resultado e Discussão

As 11 amostras colhidas inicialmente apresentaram crescimento nos meios de cultura Ágar Macconkey e Ágar Sabouraud, ondem apresentaram ótimo crescimento microbiano e fúngico. Foram isoladas 69 colônias bacterianas, todas as amostras bacterianas foram também submetidas ao crescimento em ágar MacConkey adicionado os antibióticos Ciprofloxacina e Cefotaxima para seleção de possíveis colônias resistentes aos antibióticos. De acordo com a Tabela 1, é possível observar que 91% das amostras A1, A2, B1, B2, C1, C2, D1, D2 e E1, apresentaram crescimento positivo em meio de cultura acrescido com cefotaxima, que segundo Carmine et al. (1983) & Todd e Brogden (1990), é o primeiro antibiótico da família das cefalosporinas de terceira geração, de ampla ação principalmente sobre gram-negativas e utilizados no tratamento de doenças causadas por enterobactérias multirresistentes. Em 55% das amostras A2, B2, C2, D1, E1 e E2 apresentaram crescimento em meio de cultura com ciprofloxacina, um antibiótico

de amplo espectro da família das quinolonas, de eficácia contra quase todas gram-negativas (CAZEDEY, 2009).

A presença de microrganismos em superfícies, como citado por Battaglini (2012), além de causarem deterioração do alimento, são responsáveis por diversas causas de toxinfecções, a presença das bactérias indicadoras de contaminação fecal, e principalmente a *Escherichia coli* e

Salmonella spp. Além disto, estes são indicativos de grande deficiência nos procedimentos de higienização do setor. Os resultados positivos para turbidez do caldo Rapapport nas amostras A1, A2, B1, D1, D2, E1 e E2, foram um indicativo da presença de *Salmonella spp.* ou *Shigella spp.*, e necessitaram posterior identificação destas colônias.

Tabela 1 - Perfil de resistência microbiana das amostras coletadas dos panos de tecido, e cultivadas em ágar MacConkey acrescidos de Ciprofloxacina e Cefotaxima.

| ATB | A1 | A2 | B1 | B2 | C1 | C2 |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| CIP | negativo | positivo | Negativo | positivo | negativo | positivo |
| CTX | positivo | positivo | Positivo | positivo | positivo | positivo |
| CALDO RAPAPPORT | Turvo | turvo | Turvo | turvo | normal | Normal |

| ATB | D1 | D2 | E1 | E2 | F1 |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| CIP | positivo | negativo | positivo | positivo | negativo |
| CTX | positivo | positivo | positivo | positivo | negativo |
| CALDO RAPAPPORT | turvo | Turvo | turvo | turvo | normal |

Na segunda fase do processo, as colônias foram submetidas ao teste bioquímico, para identificação dos gêneros da família *Enterobacteriaceae* presentes nas amostras. Os resultados estão presentes na Tabela 2. As 27 colônias isoladas que se classificaram como bactérias da família *Eterobacteriaceae*, das quais 40% eram do

gênero *Enterobacter* e 11% do gênero *Citrobacter*, e 15% do gênero *Klebsiella*.

Nos estabelecimentos B e D foram os únicos locais onde se identificou a presença da bactéria *Escherichia coli*. Esta bactéria está presente no trato gastrointestinal de mamíferos e aves, e é uma bactéria gram-negativa, quando presente

no alimento e no ambiente de produção, sendo um indicador de contaminação fecal

e falta de higiene em especial dos manipuladores (SCHUROFF et al., 2014).

Tabela 2 – Frequência e classificação dos agentes isolados nos panos de tecido, por meio da técnica de identificação bioquímica.

| GÊNERO | NUMERO DE ISOLADOS/TOTAL | % | AMOSTRA/GENERO |
|-------------------------|--------------------------|-----|----------------|
| <i>Enterobacter</i> | 11/27 | 40% | A,B,D,E |
| <i>Citrobacter</i> | 3/27 | 11% | A,C |
| <i>Escherichia coli</i> | 3/27 | 11% | B,D |
| <i>Hafnia</i> | 1/27 | 4% | C |
| <i>Klebsiella</i> | 4/27 | 15% | A,B,C |
| <i>Proteus</i> | 1/27 | 4% | D |
| <i>Serratia</i> | 1/27 | 4% | A |
| <i>Shigella</i> | 3/27 | 11% | A,B |

A *E. coli* apresenta características específicas quando semeada em ágar MacConkey, observando-se coloração

vermelho/rosado devido á fermentação da lactose (KONEMAN, 2008), como observado nas figuras abaixo.

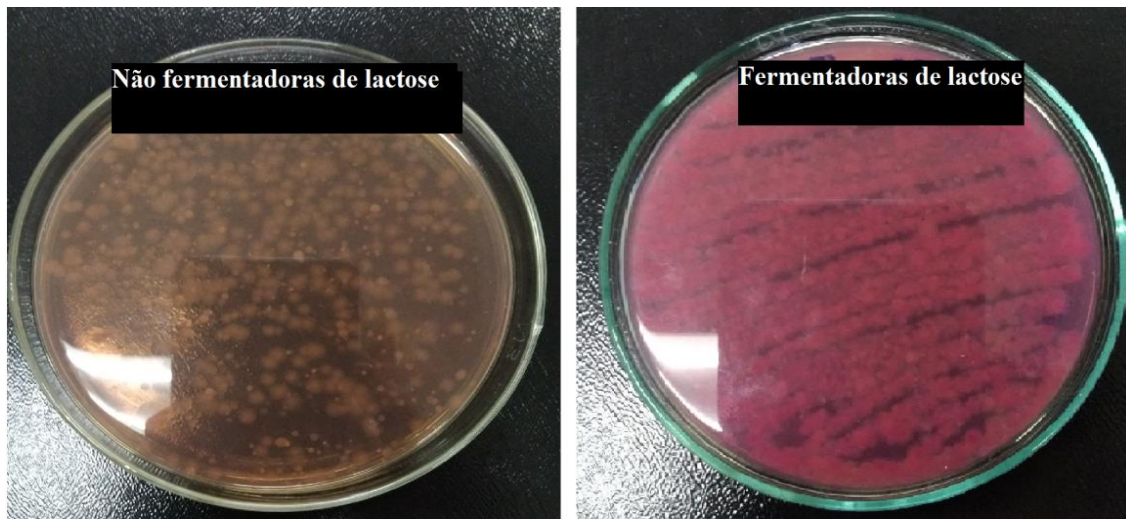


Figura 2: Placas contendo ágar MacConkey, demonstrando presença da fermentação de lactose. Imagens: arquivo pessoal.

A identificação da espécie *E. coli* no exame bioquímico, apresentou os resultados: Produção de gás a partir da fermentação de glicose, lactose, indol, lisina positivas, motilidade positiva exceto em casos de *E. coli* enteroinvasora e H₂S, citrato e urease negativa. Os resultados foram interpretados através de tabela referenciada por KONEMAN (2008).

Embora o estabelecimento B, tenha uma melhor estrutura física e uma maior orientação com relação às boas práticas de manipulação quando comparado ao grupo D, verifica-se que em ambos os estabelecimentos as atividades realizadas estão com certo risco operacional, e que há uma falha nos cuidados de higiene por parte dos manipuladores, e ainda, que estes funcionários precisam de melhores orientações quanto a forma correta de manipulação dos alimentos e os cuidados com a higiene.

No antibiograma os fármacos que mostraram maior eficácia contra os isolados de *E. coli* foram, ciprofloxacina, gentamicina, cloranfenicol, enrofloxacin, azetronam, cefalexina, imipenem, ceftazidima, cefepime e sulfazotrim. As amostras de *Escherichia coli* isoladas denominadas D9 e B7, apresentaram sensibilidade intermediária aos antimicrobianos cefotaxima e cefazolina respectivamente e a amostra D4 foi

sensível a todos os antimicrobianos testados.

Os antimicrobianos cefazolina e cefotaxima, portanto, não apresentaram 100% de eficácia sobre as bactérias da espécie *E. coli* testadas.

Com relação a cefazolina 66% das amostras foram sensíveis, e cefotaxima 66% apresentaram sensibilidade.

Um importante fator deste trabalho, foi a identificação como demonstrado por Martins (2020) que a distribuição do conhecimento em boas práticas de manipulação e a legislação atual, não estão sendo satisfatórias. O trabalho demonstrou que 72% dos estabelecimentos não possuíam veterinários responsáveis ou equipe de consultoria para instrução em boas práticas, e este resultado foi observado nas colheitas do grupo 2, onde o mesmo não ocorria e isto trás resultados que levam a contaminação do ambiente e do produto.

Como descrito por Battaglini (2012) e observado neste trabalho, o uso dos panos de tecido (pano de prato) nos setores de manipulação, embora proibidos por legislação, é uma atividade comum dentro dos setores.

Frequentemente a contagem microbiológica em panos de prato são altas, e desta forma podem facilmente disseminar esses microrganismos por todo

o setor. Também descreveram que a colheita de forma superficial só demonstra que os resultados verdadeiros provavelmente indicariam contagens e presença de microrganismos muito mais alta.

Conclusão

Como foi encontrado a presença de diversas bactérias da família *Enterobacteriaceae*, que possuem grande importância para saúde humana, e 2 estabelecimentos de 6 a presença de *Escherichia coli*, demonstrou a necessidade de implementar medidas mais eficazes de higiene dos manipuladores e dos utensílios utilizados para manipulação. Com tudo considera-se que as medidas de higiene dos estabelecimentos que participaram da pesquisa não se mostram eficazes, desta forma recomenda-se a implementação de cursos de capacitação dos manipuladores de formas inovadoras a fim de corrigir os problemas referentes as práticas de higiene e capacitação da equipe responsável pela fiscalização e exigências nas normas legislativas existentes. Os demais resultados alertaram para a importância do conhecimento e estudo da resistência bacteriana com relação aos antibióticos existentes e suas formas de transmissão pelos alimentos ao homem.

Agradecimentos

Agradeço a toda equipe do laboratório de microbiologia da Universidade Estadual de Londrina, principalmente ao professor Gerson Nakazato e a aluna de mestrado Miriam Dimbo, pelo acompanhamento durante toda pesquisa e ensino das técnicas necessárias. Agradeço ao conhecimento em especial a colega de mestrado Jessica Cantarini, que me auxilia e apoia desde o início deste estudo. E demais participantes de toda pesquisa e família que me apoia de forma contínua.

Referências

AGUIAR, C; PEREIRA, L.; MAZZONETTO, C.; SIMONY, R.F.; GINEFRA, I.; MARÇAL, T. Implementação de boas práticas de manipulação em uma creche do município de São Paulo. **Cadernos do Centro Universitário São Camilo**, São Paulo, v.12, n.1, p.47-57, 2006.

ANDRADE, N.J.; SILVA, R.M.; BRABES, K.C.S. Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição. **Ciênc. Agrotec** [Online], ISSN 1413-7054, Lavras - MG, v.27, n.3, p.590-596, 2003. Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542003000300014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 15 de Abril de 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR 10203: preparo da amostra para exame microbiológico. Rio de Janeiro: mar. 1988. 3 p.

BATTAGLINI, A.P.P; FAGNANI, R; TAMANINI, R; BELOTI, Vanerli. Qualidade microbiológica do ambiente, alimentos e água, em restaurantes da Ilha do Mel/PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 741-754, abr. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 368, de 04 de setembro de 1977. Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 1977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União; Poder Executivo**, Brasília (DF), 2004.

CARMINE, A.A.; BROGDEN, R.N., HEEL, R.C.; SPEIGHT, T.M.; AVERY, G.S. Cefotaxime: A review of its antibacterial activity, Pharmacological properties in therapeutic use. *Drugs* 25, p. 223–289, 1983. **Doi:** <https://doi.org/10.2165/00003495-198325030-00001>.

CAZEDEY, E.C.L. **Análise químico-farmacêutica de cloridrato de ciprofloxacino em solução oftálmica**. 179. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara – SP, 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 28ª edição. Wayne- USA, CLSI supplement M100S, 2018, 296p.

KONEMAN, E. W. **Diagnóstico Microbiológico**. 6ª edição. Local: Guanabara-Koogan, 2008.

MACEDO, K.H; SILVA, C.R.D; DAMBROZIO, A.M.L; KLEIN, A.L; OLIVEIRA, W.D.D; SANCHES, M.S; ROCHA, S.P.D; OCAÑA, A.N; PELAYO, J.S. Caracterização de *Escherichia coli* diarréico-gênica isolada de água subterrânea para consumo humano em um assentamento rural. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 41, n. 2, p. 263-272, 2020.

MARMENTINI, R.P.; ALVARENGA, V.O.; RONQUI, L. **Manual de Boas Práticas de Manipulação de Alimentos**. Universidade Federal de Rondônia – UNIR, 2010.

Disponível em: <http://www.facimed.edu.br/site/.../8770b901b3aff4febc857ec524d8cb40.p.>>. Acesso em 08 de abril de 2019.

MARTINS, G.C.G; BUCHINI, J.L.C; MARZOLA, I.P; AMORIM, A.R; GOBETTI, S.T.C; MARÇAL, W.S. Nível de conhecimento dos manipuladores de alimentos de origem animal sobre segurança alimentar: Londrina e região. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.14, n. 2, p. 185 – 195, abr – jun, 2020.

PASSOS, E.C.; ALMEIDA, C.S; ROSA, J.P.; ROZMAN, A.R.P.M.; SOUZA, C.V.; PASCHOAL, R.C.; TAVARES, M. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. vol.67, n.3, p. 237-240, 2008.

PINHEIRO, M.B.; WADA, T.C.; PEREIRA, C.A.M. Análise Microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Revista Simbio Logias**, São Carlos, v.3, n.5, p. 115-124, 2010.

SANTOS, P.M.S.; KOURI, S; MELLO, L.A.O. **Análise microbiológica pré e após treinamento de manipuladores de alimento de uma panificadora**. In: XIINIC Encontro Latino Americano de Iniciação científica; XI EPG Encontro Latino Americano de Pós Graduação; V INIJr Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior, 2011, São José dos Campos – SP, Anais... José dos Campos: Univap – Urbanova, 2011, 4p.

SCHUROFF, P. A; LIMA, N.R; BURGOS, T.N; LOPES, A.M; PELAYO, J.S. Qualidade microbiológica da água do Lago Igapó de Londrina - PR e caracterização genotípica de fatores de virulência associados a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC). **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.35, n.2, p.11, 2014.

SILVA, R. A. **Ciência do alimento: contaminação, manipulação e conservação dos alimentos**. 2012. 37p. Trabalho de Conclusão de Curso (Pós Graduação em Ensino em Ciências) – Universidade

Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira - PR, 2012.

TEIXEIRA, P.; SILVA, S.C.; ARAÚJO, F.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Bacterial Adhesion to Food Contacting Surface In: MÉNDEZ-VILAS. **Communicating Current Research and Education Topics and Trends in Applied Microbiology**. A. ed. Portugal: Formatex, 2007.

TODD, P.E.; BROGDEN, R.N. Cefotaxime: Na update of its pharmacology and therapeutic use. *Drugs* 40, p.608–651, 1990. **Doi:** <https://doi.org/10.2165/00003495-199040040-00008>