

CONTAMINAÇÃO CHEGA À MESA: MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

DOI: 10.56041/9786599841828-3

GROTH, Luís H. M.

Universidade do Contestado, Concórdia, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0003-1987-8836>

COLLATO, Maisa M.

Universidade do Contestado, Concórdia, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0001-8619-5045>

Autor Correspondente: grothluis@hotmail.com

RESUMO

O uso de especiarias como condimento na culinária é considerado milenar. No entanto, como algumas são consumidas sem cozimento ou higienização adequada, podem permanecer com agentes patogênicos como as enterobactérias, responsáveis por diversos problemas gastrointestinais. Considerando a importância de conhecer os contaminantes dessas especiarias, para subsidiar as orientações adequadas para condução de medidas profiláticas efetivas, estudos como o presente são necessários. Desta forma, este trabalho foi desenvolvido com o intuito de identificar o perfil de enterobactérias presentes em especiarias comercializadas *in natura* em supermercados, além de verificar o perfil de resistência a antimicrobianos. Um total de 53 amostras foram coletadas, das quais foram isoladas 16 espécies de enterobactérias, 93% delas resistentes a ampicilina, no entanto, todas foram sensíveis a imipenem. Desta forma, faz-se necessário o uso de métodos de higienização com bactericidas para evitar a disseminação destes patógenos.

Palavras-chave: condimentos; micro-organismos; resistência a antimicrobianos.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente é comum a divulgação das vantagens do uso de especiarias na alimentação, seja pelos benefícios de ingestão de substâncias importantes ou pelo sabor que pode substituir o açúcar ou sal. Deste modo, a comercialização destes condimentos alimentares tornou-se abundante em escala mundial, sendo vendidas a granel e em recipientes vedados nas fábricas e também recomendadas em alimentos frios e sem prévio cozimento. As especiarias podem ser oriundas de plantas inteiras ou partes dela como fruto, flor, semente, raiz ou córtex, que podem ser utilizados frescos, dessecados, subdivididos ou moídos (Furlaneto & Mendes, 2008).

Os princípios ativos encontrados nos extratos das especiarias e a concentração dos mesmos podem apresentar diferenças durante o processo da

colheita, devido à exposição a micro-organismos, insetos, poluentes, além do armazenamento em locais inadequados e mal ventilados, úmidos, não submetidos à limpeza frequente, podem colaborar para a proliferação de agentes patogênicos e de produtos de baixa qualidade (Del Ré & Jorge, 2012).

Toda a recomendação de benefícios à saúde pode estar ameaçada se estes condimentos estiverem contaminados por micro-organismos potencialmente patogênicos, os quais podem causar sérias intoxicações alimentares. Doenças relacionadas ao consumo de alimentos são as principais causas de morte no mundo, anualmente morrem 1,5 bilhões de pacientes com diarreia e três milhões crianças menores de cinco anos (Karam & Barbosa 2010). Entre 1973 e 2010, especiarias contaminadas foram responsáveis por 14 surtos relacionados ao seu consumo (Kisanga & Patel, 2016). Dentre estes micro-organismos destacam-se as enterobactérias patogênicas.

Referindo-se à carga microbiana, o contato com umidade, temperatura e manipulação inadequadas, desde a produção até a comercialização e posterior distribuição, pode ocorrer a contaminação, sendo que cada via possui seus próprios meios, que podem acarretar enfermidades ao consumidor (Fritzen et al., 2006). A ingestão de alimentos contaminados vem sendo uma grande problemática, gerando preocupação constante ao nível global. Micro-organismos podem estar presentes em alguns alimentos e desencadear intoxicações alimentares, porém sem alterar as características organolépticas destes alimentos. Os principais agentes microbiológicos relacionados a estas intoxicações são os vírus, bactérias, protozoários, parasitas, fungos e toxinas provenientes dos metabolismos microbianos (Gallo et al., 2020).

Enterobacteriaceae é a maior e mais heterogênea família de bactérias, compostas por bacilos gram negativos. Essas bactérias estão amplamente distribuídas no solo, água, vegetais como as especiarias e no trato intestinal de animais de sangue quente. Várias espécies dessa família podem causar processos patogênicos como os abscessos, meningites, sepses, pneumonias, ITU's (infecções do trato urinário), infecções do trato gastrointestinal (Mencarelli et al., 2021).

Dentre as bactérias enterobactérias que possuem maior relevância clínica e epidemiológica destacam-se *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter spp* e *Klebsiella pneumoniae* (Silva & Oliveira, 2008). As enterobacteriáceas podem produzir uma gama de fatores de virulência comprovados e potenciais mediados por sistemas complexos de regulação, sensíveis a diferentes condições ambientais, permitindo a elas adaptarem-se a diferentes nichos ecológicos (Rossi et al., 2018).

Considerada um problema de relevância mundial, a resistência dos micro-organismos aos antimicrobianos continua sendo uma ameaça para a atenção aos pacientes e para o controle das doenças em todo o mundo (OMS, 2011). Esse fenômeno é referente a cepas de micro-organismos que conseguem desenvolver-se na presença de altas concentrações de antimicrobianos (Oliveira et al., 2010). O desenvolvimento da resistência bacteriana frente aos antimicrobianos é resultante da pressão seletiva exercida através do uso dos antimicrobianos, que sofre expansão acelerada, por conta da utilização equivocada e inadequada destes medicamentos. Essa resistência é responsável por consequências clínicas, estando diretamente relacionada com aumento da morbidade e mortalidade, por conta de atrasos na administração de tratamentos eficazes contra as infecções causadas por bactérias resistentes (Loureiro et al., 2016).

Diante de tudo isso, o presente estudo teve por objetivo avaliar o perfil da comunidade de enterobactérias presentes em especiarias *in natura* comercializadas em supermercados, bem como avaliar a resistência destas cepas a antibióticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Amostras de especiarias salsa (*Petroselinum crispum*) e cebolinha (*Allium fistulosum*) foram coletadas em quatro estabelecimentos comerciais, totalizando 53 amostras. Após coletadas, acondicionaram-se as amostras em

recipientes esterilizados e encaminharam-se as mesmas para o laboratório de processamento, respeitando tempo máximo de três horas após a coleta.

2.2 Isolamento de Enterobactérias

Após coletadas, 25 g de cada amostra foram submetidos a um pré-enriquecimento em água peptonada. Em seguida incubando-as à 37°C por 24 horas. Os meios que apresentaram turvação foram semeados em ágar MacConkey (meio de cultura seletivo para bactérias gram-negativas) por meio da técnica de esgotamento superficial, e na sequência foram incubados a 37°C por 24 horas. Após o período de crescimento das bactérias em ágar MacConkey, as colônias foram repicadas em ágar nutriente para crescimento visando à purificação das mesmas para posterior identificação por meio de testes bioquímicos.

2.3 Identificação Bacteriana

As bactérias crescidas e isoladas em ágar nutriente foram submetidas a testes bioquímicos para identificação pelo kit comercial Painel para enterobactérias seguindo as orientações do fabricante (Probac®), e incubadas a 37°C por 24 horas. Os resultados dos testes bioquímicos foram interpretados e inseridos na plataforma digital do *software* Identax (Probac®) para serem identificadas.

Todo o procedimento foi realizado respeitando os tempos de incubação, bem como as orientações do fabricante dos testes de identificação bacteriana pelo painel de enterobactérias (Probac®).

2.4 Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos

Após a identificação das enterobactérias realizou-se o teste de sensibilidade a antimicrobianos, para avaliar o perfil de resistência das bactérias isoladas. Para isso, utilizou-se ágar Mueller Hinton de acordo o

método de Difusão em Disco de Kirby Bauer's (Biemer, 1973). Testaram-se os antimicrobianos das classes das penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e tetraciclina. Estes foram escolhidos com base na recomendação do Comitê Europeu de Testes de Suceptibilidade Antimicrobiana (EUCAST).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o presente estudo, foram analisadas 53 amostras de especiarias *in natura*, das quais foram isoladas e identificadas 16 espécies de enterobactérias, sendo 15 consideradas patogênicas para seres humanos. Na Figura 1 são apresentados os resultados de diversidade bacteriana das amostras coletadas em quatro estabelecimentos. Observa-se que as amostras coletadas nos pontos 2 e 3 apresentaram a maior e a menor diversidade de espécies, respectivamente. Entre os vários fatores que poderiam contribuir para estes resultados, destaca-se que no estabelecimento comercial 2 há um maior fluxo de pessoas, que por hábito tocam nos condimentos no momento da escolha da compra, aumentando a probabilidade de transferência de bactérias das mãos para as especiarias.

Das espécies bacterianas encontradas, destacam-se as do gênero *Citrobacter* (*C. freundii* e *C. murlinae*). Este gênero é classificado em 11 espécies (*C. freundii*, *C. koseri*, *C. amalonaticus*, *C. farmeri*, *C. youngae*, *C. braakii*, *C. werkmanii*, *C. sedlakii*, *C. rodentium*, *C. gilleni* e *C. murlinae*), das quais *C. freundii* e *C. koseri* foram reconhecidos como patógenos significativos em pacientes com doenças subjacentes ou imunocomprometidos (Liu et al., 2018). Estas bactérias são geralmente encontradas na água, no solo, nos alimentos, no intestino de animais, seres humanos e sendo conhecidas por causar um amplo espectro de septicemia, meningite, pneumonia, azotemia e estado mental alterado (podendo variar de uma leve confusão ao coma). As espécies de *Citrobacter* representam 0,8% de todas as infecções causadas por bactérias gram-negativas, além de uma crescente taxa de mortalidade de 6,8% entre

pacientes hospitalizados e aumento de 17,8 para 56% de casos de bacteremia (Liu et al., 2018; Chen et al., 2019).

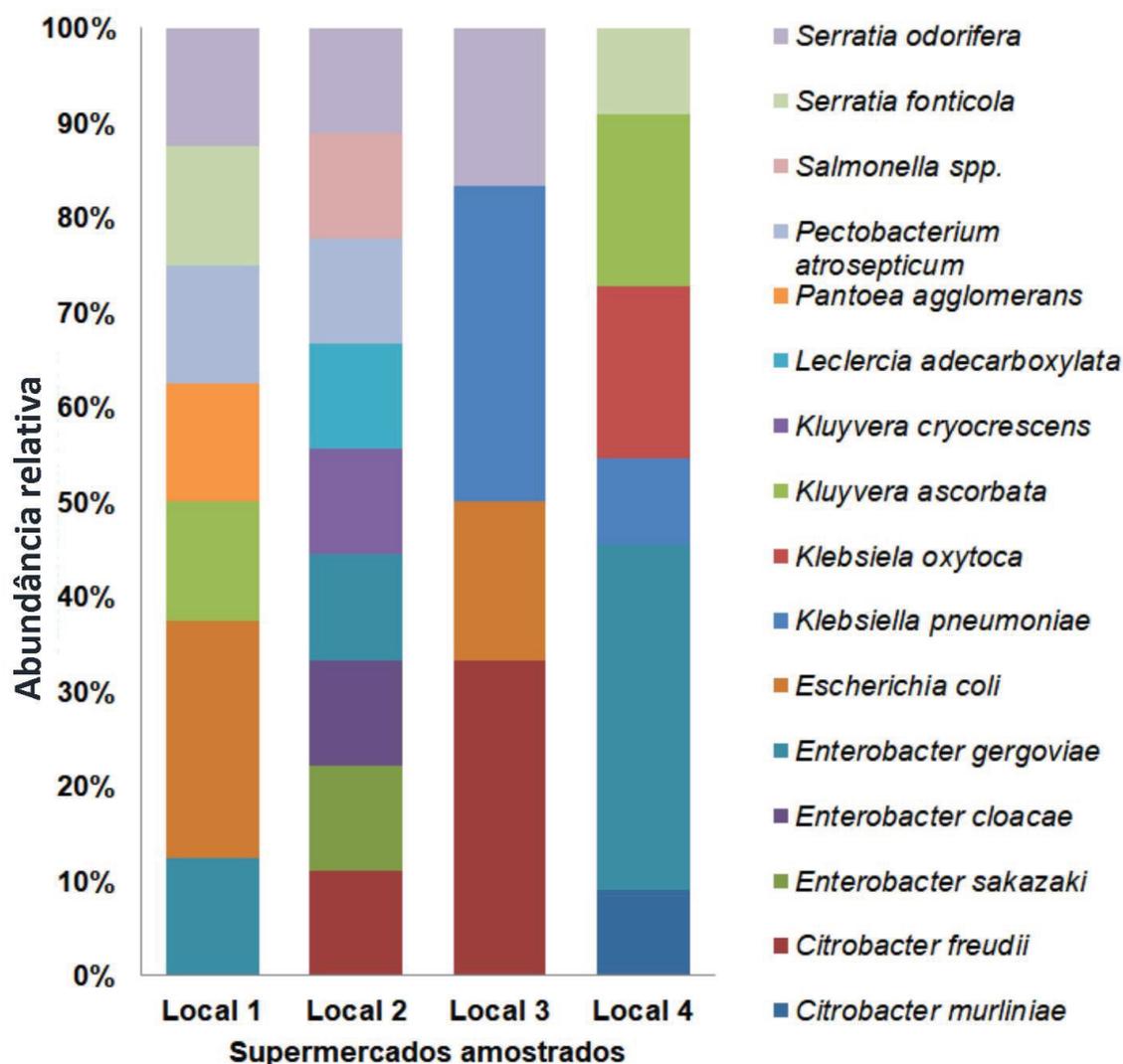


Figura 1 - Abundância relativa de enterobactérias isoladas de especiarias comercializadas in natura em supermercados.

Outras bactérias isoladas durante o estudo foram as do gênero *Enterobacter* (*E. gergoviae*, *E. sakazaki* e *E. cloacae*). *E. gergoviae*, um micro-organismo oportunista geralmente isolado de ambientes como esgoto, solo e alimentos (Rashid & Lim, 2017). Há relatos de casos de bacteremia primária, endoftalmite traumática, sepse neonatal, abscesso abdominal, pneumonia, osteomielite e infecções do trato urinário associados a esta bactéria (Freire et al., 2016). *E. gergoviae* têm sido associada a surtos de resistência a antimicrobianos em hospitais, podendo apresentar resistência às

cefalosporinas de terceira geração (Freire et al., 2016). *E. sakazakii* caracteriza-se por ser um patógeno de origem alimentar e oportunista, tem sido isolado em diferentes ambientes alimentares, como equipamentos utilizados na produção e preparação de alimentos. É considerado patógeno emergente, responsável por casos de infecções neonatais, incluindo necrotização, enterocolite, meningite, bacteremia e sepse, implicado no desenvolvimento de infecções bacterianas em recém-nascidos desde 1961. Possui uma taxa de mortalidade de 40% a 80% em recém-nascidos (Mashoufi et al., 2017).

E. cloacae é um importante patógeno nosocomial oportunista, multirresistente e infeccioso, capaz de adquirir elementos móveis genéticos que contribuem fortemente para a resistência a antimicrobianos (Girlich et al., 2015). É encontrado em plantas, insetos, trato intestinal de humanos, e equipamentos hospitalares, possuindo uma alta variedade genética. Contribui para bacteremia, endocardite, artrite séptica, osteomielite, infecções da pele/tecidos moles e infecções do trato respiratório e intra-abdominais (Davin-Regli & Pagès, 2015).

Outro gênero de importância clínica identificada foi a *Klebsiella* (*K. pneumoniae* e *K. oxytoca*). Estas são bactérias oportunistas, isoladas de animais e humanos, conhecidas por causar infecções nosocomiais graves, como pneumonia, além de infecções primárias da corrente sanguínea. Sobrevivem facilmente em ambiente hospitalar, disseminando-se de paciente para paciente, por meio de contaminação cruzada (Aquino & Herzig, 2018). *K. pneumoniae* aumenta sua colonização 77% na nasofaringe e 19% nas fezes com aumento do período de permanência no ambiente hospitalar (Valenzuela-Valderrama et al., 2019). A resistência a antimicrobianos apresentada pela *K. pneumoniae* tornou-se um problema de saúde pública e preocupação em todos os campos da saúde nos últimos anos, onde foram descritos casos de mortes provocadas por *K. pneumoniae*, produtora da enzima carbapenemase (Silva et al., 2016). *K. oxytoca* é uma bactéria associada a cateteres intravenosos utilizados no ambiente hospitalar, apresentando-se como importante patógeno causador de infecções nosocomiais (Aquino & Herzig, 2018; Seliškar et al., 2007).

O gênero *Kluyvera* também foi detectado como contaminante das especiarias (*K. ascorbata* e *K. cryocrescens*). Este gênero é composto por cinco

espécies: *K. ascorbata*, *K. cryocrescens*, *K. georgiana*, *K. intermedia* e *K. intestini* (Li et al., 2019). Estão presentes no solo e na água, e consideradas bactérias comensais normais no trato gastrointestinal do ser humano (Sharma et al., 2015). *K. ascorbata* tornou-se clinicamente importante devido a uma ampla gama de manifestações clínicas em neonatos, além de transferir genes de β -lactamases de espectro estendido do tipo CTX-M (ESBLs) para outros membros da família *Enterobacteriaceae* (Li et al., 2019). Já a espécie *K. cryocrescens* é conhecido como um patógeno oportunista e a infecção é considerada relativamente rara (Yoshino et al., 2016).

Das espécies encontradas, destaca-se também a *Leclercia adecarboxylata*, geralmente isolada em hospedeiros imunocomprometidos, ou em infecções polimicrobianas. Amplamente distribuída em alimentos e água, fazendo parte da microbiota intestinal do ser humano e de animais. Os principais organismos co-infectante são: *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Sacconi et al., 2017).

Pantoea agglomerans apresenta-se como outro microrganismo isolado e identificado ao longo do estudo. Um organismo frequentemente isolado de plantas, água, solo e alimentos, considerado um patógeno oportunista, requerendo um hospedeiro imunocomprometido para desenvolver a infecção. É descrita como um causador de várias doenças ocupacionais, causadas pelos efeitos de endotoxinas produzidas (Büyükcem et al., 2018). As infecções oportunistas ocorrem principalmente em pacientes com feridas abertas que possuem imunocomprometimento, ou ainda, em pacientes com infecções hospitalares (Okwundu & Mercer, 2019).

Amplamente distribuída na natureza, à bactéria *E. coli* foi uma das cepas isoladas durante a pesquisa. Destaca-se em especial o fato desta bactéria ser indicativo de contaminação fecal, sendo assim de extrema relevância para a saúde pública (Drumond et al., 2018). Seu habitat consiste do trato intestinal de seres humanos e animais, e a maioria das cepas são consideradas comensais por não apresentarem caráter patogênico e terem importante papel fisiológico para o funcionamento do organismo. No entanto, existem cepas variantes classificadas em seis subcategorias patogênicas de *E. coli*, as quais causam

infecção intestinal em homens e animais. As subcategorias são: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou *E. coli* produtora da toxina de Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC) (Souza et al., 2016).

Pectobacterium atrosepticum também apresentou-se como contaminante das especiarias estudadas. Possui importante relevância para a área agrônômica, por ser um patógeno vegetal. A maioria das informações sobre pectobactérias diz respeito à interação com os hospedeiros das plantas, e pouco se sabe sobre como essas bactérias passam grande parte de sua vida fora do hospedeiro (Kwenda et al., 2016).

Outro micro-organismo encontrado nas amostragens do estudo foi a *Serratia fonticola*, a qual tem sido encontrada em diversos ambientes, tais como água potável, solo e esgoto, além de amostras clínicas obtidas de feridas e vias respiratórias. Poucos casos relatam infecções humanas por *S. fonticola*, e estes envolveram infecções polimicrobianas da pele e tecidos moles após trauma (Aljorayid et al., 2016).

Também foram isoladas bactérias do gênero *Serratia*: *S. odorífera* e *S. fonticola*. *S. odorífera* foi descrita como pertencente à microbiota intestinal de mosquitos *Aedes aegypti*, onde causa o bloqueio de moléculas intestinais importantes, que como consequência aumentam a susceptibilidade do mosquito a infecção pelo vírus da dengue tipo 2 (Apte-Deshpande et al., 2012).

Por fim, isolaram-se também cepas identificadas como pertencentes ao gênero *Salmonella*, onde se encontra a *Salmonella entérica*. Esta espécie é dividida sorologicamente em mais de 2500 sorotipos, os quais estão relacionados a infecções em humanos, suínos, bovinos e aves. Em humanos, vários sorotipos tem sido associados a graves intoxicações alimentares (Jajere, 2019).

A presença dessas bactérias em especiarias como salsa tem sido reportadas em outros estudos como o conduzido por Said et al. (2015) onde foram encontradas cepas de *E. coli* produtoras de β -lactamase de espectro estendido (Said et al., 2015) e o realizado por Veldman et al. (2014) onde foram

isoladas cepas de *Klebsiela pneumoniae* multirresistente. Já em amostras de cebolinha foram encontradas cepas de *Enterobacter clocae* multirresistente, além de *Serratia fonticola* em amostras de salada mista, cepas também multirresistentes (Nueesch-Inderbinen et al., 2015). Além disso, a presença de enterobactérias como a *Salmonella sp.* tem sido observada em outras especiarias como pimenta, misturas desidratadas, orégano (Mckee, 1995; Jernberg et al., 2015; Lins, 2018).

Cepas de todas as espécies isoladas no presente estudo foram desafiadas quanto ao seu perfil comportamental frente a antimicrobianos das principais classes utilizadas clinicamente para humanos, sendo os resultados apresentados na Figura 2.

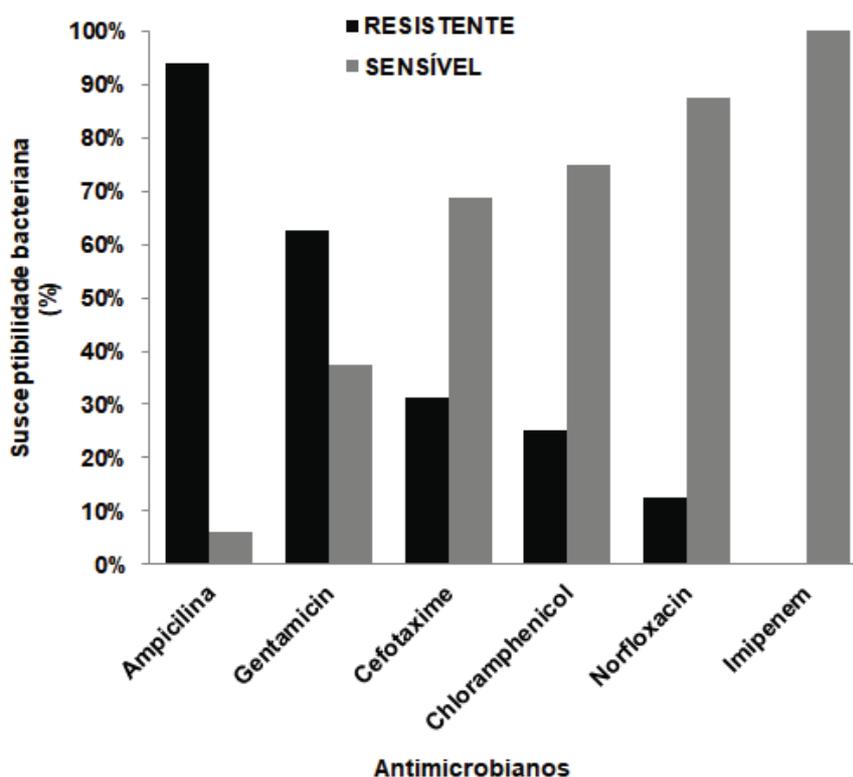


Figura 2 – Teste de susceptibilidade bacteriana frente aos antimicrobianos.

Observa-se que a ampicilina mostrou-se o antibiótico com maior taxa de resistência (93,8%) frente às cepas isoladas, caracterizando-o como ineficaz para essas. Por outro lado, o antimicrobiano imipenem mostrou-se mais eficaz, pelo fato de 100% das cepas desafiadas terem se mostrado sensíveis a ele. Ampicilina e gentamicina apresentaram maior porcentagem de bactérias

resistentes, evidenciando o cenário atual, a crescente aquisição de genes de resistência entre diferentes espécies bacterianas (Segal et al., 2016; Bernabe et al., 2017). Estudos também identificaram cepas de enterobactérias que apresentaram o mesmo perfil de susceptibilidade aos mesmos antimicrobianos utilizados no presente estudo (Hamilton-Miller & Shah, 2001; Veldman et al., 2014; Nueesch-Inderbinen et al., 2015).

Diante deste cenário, deve-se enfatizar o uso de medidas profiláticas efetivas para minimizar os riscos de contaminação associados ao consumo destas especiarias. Destaca-se que o Ministério da Saúde disponibiliza orientações em linguagem prática e rica em detalhes sobre os procedimentos adequados em uma cartilha (Brasil, 2016). Entre os procedimentos de higienização recomendados, destaca-se a lavagem doméstica (retirada da sujeira) e a desinfecção com solução clorada (Gomes et al., 2011), em específico hipoclorito de sódio na concentração 100-250 ppm L⁻¹, com tempo de contato de 15 minutos (Tolentino & Gomes, 2009). A exposição durante 30 segundos a uma solução de hipoclorito na concentração de 50 mg L⁻¹ consegue reduzir até 5 log de enterobactérias, porém os autores destacam que esse rendimento está associado também a temperatura e ao pH da solução (temperaturas mais altas associadas a pH ácidos tendem a reduzir a contagem bacteriana em menor tempo), vale ressaltar que estes resultados foram obtidos apenas com a exposição de soluções bacterianas, e não com os vegetais (Erkmen, 2010).

Em casos onde essas especiarias forem consumidas cozidas, há possibilidade de eliminar as bactérias presentes. Paralelamente estudos indicam a existência de enterobactérias resistentes ao calor devido à presença de genes conhecidos como LHR (do inglês *locus of heat resistance*), os quais demonstraram que após uma exposição a 60° C por 5 min, as cepas positivas para LHR reduziram menos de 1 log, enquanto as cepas negativas para LHR reduziram 7 log nas mesmas condições de exposição (Mercer et al., 2017). O estudo mostra que para redução de mais de 6 log são necessários 20 min de exposição a 60° C, no entanto, considerando que alguns estudos tem encontrado concentrações de enterobactérias na magnitude de 10⁷ UFC, a redução de 6 log ainda restaria 1 log de bactéria viável, e dependendo da espécie que está

presente, essa quantidade remanescente é suficiente para iniciar um processo infeccioso (Kaferstein, 1976; Oliveira et al., 2010; Wright et al., 2013).

4. CONCLUSÃO

O perfil de enterobactérias presente em salsa e cebolinha comercializadas *in natura* em supermercados mostrou-se diversificado, com identificação de 16 espécies, das quais 15 são consideradas patogênicas para seres humanos. As cepas isoladas apresentaram índices de resistência maiores que sensibilidade, quando desafiadas com ampicilina (93,8%) e gentamicina (62,5%), por outro lado, imipenem mostrou-se o antimicrobiano com maior perfil de sensibilidade (100%) pelas cepas. Os dados evidenciam a crescente aquisição de genes de resistência entre as cepas bacterianas, tornando diferentes classes de antimicrobianos cada vez mais ineficazes para tratamentos de infecções.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- Aljorayid, A., Viau, R., Castellino, L., & Jump, R. L. (2016). *Serratia fonticola*, pathogen or bystander? A case series and review of the literature. *IDCases*, 5, 6-8. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2016.05.003>
- Apte-Deshpande, A., Paingankar, M., Gokhale, M. D., & Deobagkar, D. N. (2012). *Serratia odorifera* a midgut inhabitant of *Aedes aegypti* mosquito enhances its susceptibility to dengue-2 virus. *PLoS One*, 7 (7), e40401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040401>
- Aquino, S., & Herzig, K. (2018). *Klebsiella oxytoca* multirresistente como agente de dermatite disseminada em cão. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46(1), 324.
- Bernabe, K. J., Langendorf, C., Ford, N., Ronat, J. B., & Murphy, R. A. (2017). Antimicrobial resistance in West Africa: a systematic review and meta-analysis. *International journal of antimicrobial agents*, 50(5), 629-639. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.07.002>
- Biemer, J. J. (1973). Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 3(2), 135-140.

BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE. Na cozinha com as frutas, legumes e verduras. 2016.

Büyükcam, A., Tuncer, Ö., Gür, D., Sancak, B., Ceyhan, M., Cengiz, A. B., & Kara, A. (2018). Clinical and microbiological characteristics of Pantoea agglomerans infection in children. *Journal of infection and public health*, *11*(3), 304-309. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.07.020>

Chen, Y., Brook, T. C., Alcon-Giner, C., Clarke, P., Hall, L. J., & Hoyles, L. (2019). Draft genome sequences of Citrobacter freundii and Citrobacter murliniae strains isolated from the feces of preterm infants. *Microbiology Resource Announcements*, *8*(33), e00494-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00494-19>

Davin-Regli, A., & Pagès, J. M. (2015). Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in microbiology*, *6*, 392. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>

Del Ré, P. V., & Jorge, N. (2012). Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. *Revista brasileira de plantas medicinais*, *14*, 389-399. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021>

Drumond, S. N., Santiago, A. D. F., Moreira, M., Lanna, M. C. D. S., & Roeser, H. M. P. (2018). Identificação molecular de Escherichia coli diarreiogênica na Bacia Hidrográfica do Rio Xopotó na região do Alto Rio Doce. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, *23*, 579-590. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522018165696>

Erkmen, O. (2010). Antimicrobial effects of hypochlorite on Escherichia coli in water and selected vegetables. *Foodborne Pathogens and Disease*, *7*(8), 953-958. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0509>

Freire, M. P., de Oliveira Garcia, D., Cury, A. P., Spadao, F., Di Gioia, T. S., Francisco, G. R., ... & Pierrotti, L. C. (2016). Outbreak of IMP-producing carbapenem-resistant Enterobacter gergoviae among kidney transplant recipients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *71*(9), 2577-2585. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw165>

Fritzen, A. L., Scwerz, D., Gabiatti, E. C., Padilha, V., & Macari, S. M. (2006). Análise microbiológica de carne moída de açougues pertencentes a 9o Regional de Saúde do Paraná. *Higiene Alimentar*, *20*(144).

Furlaneto, L., & Mendes, S. (2008). Análise microbiológica de especiarias comercializadas em feira livre e em hipermercados. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, *15*(2), 87-91.

Gallo, M., Ferrara, L., Calogero, A., Montesano, D., & Naviglio, D. (2020). Relationships between food and diseases: what to know to ensure food safety. *Food Research International*, *137*, 109414.

Girlich, D., Poirel, L., & Nordmann, P. (2015). Clonal distribution of multidrug-resistant Enterobacter cloacae. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 81(4), 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.01.003>

Gomes, C. U. S., Machado, E. J., & Mücke, N. (2011). *Avaliação das metodologias de higienização de hortaliças in natura empregadas pela população de Medianeira-Pr, utilizando alfaces (lactuca sativa) de diferentes fontes de adubação* (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

Hamilton-Miller, J. M. T., & Shah, S. (2001). Identity and antibiotic susceptibility of enterobacterial flora of salad vegetables. *International journal of antimicrobial agents*, 18(1), 81-83. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00353-3](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00353-3)

Jajere, S. M. (2019). A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary world*, 12(4), 504. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>

Jernberg, C., Hjertqvist, M., Sundborger, C., Castro, E., Löfdahl, M., Pääjärvi, A., ... & Löf, E. (2015). Outbreak of Salmonella Enteritidis phage type 13a infection in Sweden linked to imported dried-vegetable spice mixes, December 2014 to July 2015. *Eurosurveillance*, 20(30), 21194. doi: 10.2807/1560-7917.es2015.20.30.21194

Käferstein, F. (1976). The microflora of parsley. *Journal of Milk and Food Technology*, 39(12), 837-840.

Karam, K. M., & Barboza, L. M. V. (2010). Estudo de hábitos alimentares na educação de jovens e adultos. *Portal da Secretaria da Educação do Paraná*, 968-4.

Kisanga, A., & Patel, S. V. (2016). Evaluation of Potential Pathogens in Spices from Stores in Kentucky. Kentucky State University.

Kwenda, S., Gorshkov, V., Ramesh, A. M., Naidoo, S., Rubagotti, E., Birch, P. R., & Moleleki, L. N. (2016). Discovery and profiling of small RNAs responsive to stress conditions in the plant pathogen Pectobacterium atrosepticum. *BMC genomics*, 17(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2376-0>

Li, Y., Luo, L., Xiao, Z., Wang, G., Li, C., Zhang, Z., ... & Zhang, L. (2019). Characterization of a carbapenem-resistant Kluyvera Cryocrescens isolate carrying bla NDM-1 from hospital sewage. *Antibiotics*, 8(3), 149. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030149>

Lins, P. (2018). Detection of Salmonella spp. in spices and herbs. *Food Control*, 83, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.040>

Liu, L. H., Wang, N. Y., Wu, A. Y. J., Lin, C. C., Lee, C. M., & Liu, C. P. (2018). *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, *57*(4), 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.08.016>

Loureiro, R. J., Roque, F., Rodrigues, A. T., Herdeiro, M. T., & Ramalheira, E. (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de saúde pública*, *34*(1), 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>

Mashoufi, A., Hashemi, M., Ghazvini, K., Mobarhan, M. G., & Afshari, A. (2017). *Cronobacter sakazakii*, a New Threat: Characteristic, Molecular Epidemiology and Virulence Factors. *Annual Research & Review in Biology*, 1-21. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2017/37657>

McKee, L. H. (1995). Microbial contamination of spices and herbs: a review. *LWT-Food Science and Technology*, *28*(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80004-2)

Mencarelli, J. M., Costa, B. E., Gonçalves, G. C., Faria, A. G., de Souza, A. C., Oliveira, C. D. M. S., ... & Rufino, L. R. A. (2021). Prevalência de klebsiella pneumoniae em cães e seus tutores. *Research, Society and Development*, *10*(7), e9410713051-e9410713051.

Mercer, R. G., Walker, B. D., Yang, X., McMullen, L. M., & Gänzle, M. G. (2017). The locus of heat resistance (LHR) mediates heat resistance in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* and *Enterobacter cloacae*. *Food microbiology*, *64*, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.12.018>

Nüesch-Inderbinen, M., Zurfluh, K., Peterhans, S., Hächler, H., & Stephan, R. (2015). Assessment of the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in ready-to-eat salads, fresh-cut fruit, and sprouts from the swiss market. *Journal of food protection*, *78*(6), 1178-1181. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-018>

Okwundu, N., & Mercer, J. (2019). *Pantoea agglomerans* cutaneous infection. *Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery*, *23*(1), 41. https://doi.org/10.4103/jdds.jdds_43_18

Oliveira, M. A., Ribeiro, E. G. A., Bergamini, A. M. M., & De Martinis, E. C. P. (2010). Quantification of *Listeria monocytogenes* in minimally processed leafy vegetables using a combined method based on enrichment and 16S rRNA real-time PCR. *Food Microbiology*, *27*(1), 19-23. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.003>

OMS, Organização Mundial de Saúde. Dia Mundial da Saúde, - 7 de Abril de 2011. Disponível em: <www.who.int/world-health-day/2011/es/index.html>. Acesso em: 15 de maio de 2019.

Rashid, A. M. I. A., & Lim, C. T. S. (2017). Enterobacter Gergoviae Peritonitis In A Patient On Chronic Ambulatory Peritoneal Dialysis-First Reported Case. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 13(2), 67-69.

Rossi, E., Paroni, M., & Landini, P. (2018). Biofilm and motility in response to environmental and host-related signals in Gram negative opportunistic pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6), 1587-1602. <https://doi.org/10.1111/jam.14089>

Saccani, B., Izzo, I., Sasari, S., Magro, P., Ravizzola, G., Spinetti, A., & Castelli, F. (2017). Leclercia adecarboxylata isolation from blood cultures: an emerging pathogen in immunocompromised hosts. *Infect. Dis. Trop. Med*, 3(1).

Said, L. B., Jouini, A., Klibi, N., Dziri, R., Alonso, C. A., Boudabous, A., ... & Torres, C. (2015). Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. *International journal of food microbiology*, 203, 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.023>

Segal, Z., Cohen, M. J., Engelhard, D., Tenenbaum, A., Simckes, A. M., Benenson, S., ... & Averbuch, D. (2016). Infants under two months of age with urinary tract infections are showing increasing resistance to empirical and oral antibiotics. *Acta Paediatrica*, 105(4), e156-e160. <https://doi.org/10.1111/apa.13322>

Seliškar, A., Zdovc, I., & Zorko, B. (2007). Nosocomial Klebsiella oxytoca infection in two dogs. *Slov Vet Res*, 44, 115-22.

Sharma, D., Dasi, T., Murki, S., & Oleti, T. (2015). Kluyvera ascorbata sepsis in an extremely low birth weight infant. *Indian journal of medical microbiology*, 33(3), 437. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.158585>

Silva, N. S., Ribeiro, D. G., dos Santos, D., Marcela, L., & Souza, I. C. L. (2016). Klebsiella pneumoniae: a nova ameaça resistente. *Semana de Pesquisa e Extensão da Universidade Tiradentes-SEMPESq-SEMEX*, (18).

Silva, R. S., & Oliveira, A. C. (2008). Epidemiologia e controle de infecção hospitalar em uma unidade pediátrica. *Rev. enferm. UFPE on line*, 187-194.

Souza, C. D. O., Melo, T. R. B., Melo, C. D. S. B., Menezes, Ê. M., Carvalho, A. C. D., & Monteiro, L. C. R. (2016). Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarreiogênica versátil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 7(2), 79-91.

Tolentino, V. R., & Gomes, A. (2009). **Processamento de Vegetais: frutas/polpas congeladas**. Niterói: Programa Rio Rural, (Programa Rio Rural. Manual Técnico; 12).

Valenzuela-Valderrama, M., González, I. A., & Palavecino, C. E. (2019). Photodynamic treatment for multidrug-resistant Gram-negative bacteria:

Perspectives for the treatment of *Klebsiella pneumoniae* infections. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 28, 256-264. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.08.012>

Veldman, K., Kant, A., Dierikx, C., van Essen-Zandbergen, A., Wit, B., & Mevius, D. (2014). Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins and quinolones in fresh culinary herbs imported from Southeast Asia. *International journal of food microbiology*, 177, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.014>

Wright, K. M., Chapman, S., McGeachy, K., Humphris, S., Campbell, E., Toth, I. K., & Holden, N. J. (2013). The endophytic lifestyle of *Escherichia coli* O157: H7: quantification and internal localization in roots. *Phytopathology*, 103(4), 333-340. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-12-0209-FI>

Yoshino, Y., Nakazawa, S., Otani, S., Sekizuka, E., & Ota, Y. (2016). Nosocomial bacteremia due to *Kluyvera cryocrescens*: Case report and literature review. *IDCases*, 4, 24-26. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2016.02.007>