

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**FERVURA E HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA SANITIZAÇÃO DE
ESPONJAS UTILIZADAS EM UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO**

KLINGER VINÍCIUS DE ALMEIDA



Klinger Vinícius de Almeida

FERVURA E HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA SANITIZAÇÃO DE ESPONJAS
UTILIZADAS EM UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a DSc. Roberta Torres Careli

Montes Claros
2018

Klinger Vinícius de Almeida. FERVURA E HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA
SANITIZAÇÃO DE ESPONJAS UTILIZADAS EM UNIDADES DE
ALIMENTAÇÃO.

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Prof. DSc. Eduardo Robson Duarte – ICA/UFMG

MSc. Camila Ribeiro Rocha – UFV



Prof.^a DSc. Roberta Torres Careli

Montes Claros, 21 de junho de 2018.

Dedico este trabalho aos meus pais e irmãos, por todo o incentivo e cuidado durante esta trajetória e que fizeram do meu sonho uma realidade. Dedico aos “intocáveis” por todo o companheirismo e cumplicidade, em especial a Alécia e Larissa que muito me auxiliaram no desenvolvimento deste.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por seu amor incondicional.

A minha família, pelo apoio, cuidado, torcida e por não medirem esforços para que este não fosse só um sonho.

A Professora Orientadora Roberta Torres Careli, por todo cuidado, orientação e dedicação na realização deste trabalho. Agradeço pelos ensinamentos e por acreditar em mim mesmo sem experiência alguma.

Ao meu primo e amigo Victor por todo apoio e torcida durante minha graduação.

A Geilson, pela amizade, suporte e companheirismo.

Aos meus amigos: Alécia, Alisson, Ana Carolina, João Pedro, Larissa, Maria Helena, Raquel e Vinícius, por terem tornado a caminhada mais fácil de ser seguida.

A UFMG, em especial ao Instituto de Ciências Agrárias por todo o suporte e oportunidade durante a graduação.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho, meu muito obrigado.

“Não importa o que aconteça, continue a nadar.”
(WALTERS, Graham; Procurando Nemo, 2003).

RESUMO

As esponjas utilizadas na limpeza de utensílios e superfícies oferecem condições favoráveis para o crescimento de microrganismos por apresentarem resíduos alimentares e umidade, representando veículo de contaminação cruzada por transferirem microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes das superfícies para os alimentos. Neste estudo avaliou-se a eficiência de métodos químicos e físicos na descontaminação microbiológica de esponjas utilizadas na higienização de utensílios e equipamentos de unidades de alimentação da cidade de Montes Claros – MG. Dez esponjas naturalmente contaminadas foram coletadas e divididas em quatro partes, sendo que uma das partes foi submetida à análise inicial dos microrganismos presentes e as demais partes foram submetidas aos tratamentos: fervura por cinco minutos, soluções de hipoclorito de sódio a 100 e 200 mg.L⁻¹ por 15 minutos. As análises foram realizadas quanto à presença de bactérias mesófilas aeróbias (MA), coliformes a 45 °C (CF) e fungos filamentosos e leveduras (FL). Identificou-se o isolado de bactéria como *Escherichia coli* com 99,9% de similaridade. Os resultados demonstram que os três tratamentos reduziram a contagem inicial dos microrganismos, porém, a fervura foi mais eficaz com redução de 94,52% para MA, 98,25% para CF e 93,90% para FL quando comparado à carga microbiana inicial. Embora ambos os métodos de desinfecção avaliados tenham reduzido as contagens microbiológicas, a fervura foi mais eficaz quando comparada com as soluções de hipoclorito de sódio, além de ser acessível e de baixo custo, possibilitando seu emprego nas unidades de alimentação.

Palavras-chave: Esponjas de poliuretano. Contaminação microbiológica. Métodos de desinfecção.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Contagem de microrganismos em esponjas coletadas em unidades de alimentação antes e após tratamentos de sanitização. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.....16

Tabela 2 – Média dos halos de inibição (mm) do crescimento de *Escherichia coli* isolada de esponjas de poliuretano frente a antimicrobianos e hipoclorito de sódio.....18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

APHA – American Public Health Association

CF – Coliformes a 45°C

EC – Caldo *Escherichia coli*

BEM - Ágar Eosina Azul de Metileno

FL – Fungos filamentosos e leveduras

MA – Bactérias mesófilas aeróbias

SAEG – Sistema de Análises Estatísticas

UFC – Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Coleta e preparo das amostras	9
2.2. Análises microbiológicas.....	10
2.3. Isolamento de bactérias	10
2.5. Identificação do isolado de bactéria	10
2.4. Perfil de sensibilidade do isolado	11
2.5. Análise estatística	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
3.1. Análises microbiológicas.....	12
3.2. Identificação do isolado.....	14
3.3. Perfil de sensibilidade.....	14
4. CONCLUSÃO	15
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

FERVURA E HIPOCLORITO DE SÓDIO PARA SANITIZAÇÃO DE ESPONJAS UTILIZADAS EM UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO.

Klinger Vinícius de Almeida¹, Roberta Torres Careli², Alécia Daila Barros Guimarães¹, Larissa Lorrane Rodrigues Borges¹, Cintya Neves de Souza³, Bruna Mara Aparecida de Carvalho²

¹Graduandos em Engenharia de Alimentos do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

²Docentes do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

³Servidora Técnica Administrativa do Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

klinger_vinicius@yahoo.com.br

RESUMO: As esponjas utilizadas na limpeza de utensílios e superfícies oferecem condições favoráveis para o crescimento de microrganismos por apresentarem resíduos alimentares e umidade, representando veículo de contaminação cruzada por transferirem microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes das superfícies para os alimentos. Neste estudo avaliou-se a eficiência de métodos químicos e físicos na descontaminação microbiológica de esponjas utilizadas na higienização de utensílios e equipamentos de unidades de alimentação da cidade de Montes Claros – MG. Dez esponjas naturalmente contaminadas foram coletadas e divididas em quatro partes, sendo que uma das partes foi submetida à análise inicial dos microrganismos presentes e as demais partes foram submetidas aos tratamentos: fervura por cinco minutos, soluções de hipoclorito de sódio a 100 e 200 mg.L⁻¹ por 15 minutos. As análises foram realizadas quanto à presença de bactérias mesófilas aeróbias (MA), coliformes a 45 °C (CF) e fungos filamentosos e leveduras (FL). Identificou-se o isolado de bactéria como *Escherichia coli* com 99,9% de similaridade. Os resultados demonstram que os três tratamentos reduziram a contagem inicial dos microrganismos, porém, a fervura foi mais eficaz com redução de 94,52% para MA, 98,25% para CF e 93,90% para FL quando comparado à carga microbiana inicial. Embora ambos os métodos de desinfecção avaliados tenham reduzido as contagens microbiológicas, a fervura foi mais eficaz quando comparada com as soluções de hipoclorito de sódio, além de ser acessível e de baixo custo, possibilitando seu emprego nas unidades de alimentação.

Palavras-chave: Esponjas de poliuretano. Contaminação microbiológica. Métodos de desinfecção.

1. INTRODUÇÃO

As doenças veiculadas por alimentos (DVA) possuem natureza infecciosa ou tóxica, causadas pela ingestão de água ou alimentos contaminados com agentes patológicos. As DVA podem ser provocadas por microrganismos comumente encontrados nos locais de processamento de alimentos, equipamentos e utensílios, mãos de manipuladores, superfícies (BRASIL, 2017).

Os alimentos devem se enquadrar dentro de padrões higiênicos satisfatórios a fim de obter condições essenciais para a ascensão e a manutenção da saúde, sendo que a deficiência nesse controle é um dos fatores responsáveis pela ocorrência de surtos de doenças veiculadas por alimentos (OLIVEIRA, 2003). Um dos fatores mais importantes que podem contribuir para o aumento dessas doenças em serviços de alimentação é a contaminação cruzada, que pode ser originada pelos manipuladores, ambiente de produção, equipamentos, móveis e utensílios (GREIG; RAVEL, 2009).

Esse fato tem sido considerado como um dos fatores que mais contribuíram para o aumento das taxas de doença causadas por alimentos, uma vez que grande número de surtos é atribuído ao consumo das refeições produzidas em larga escala (SMITH; FRATAMICO, 1997).

As esponjas utilizadas na limpeza de utensílios e superfícies oferecem condições favoráveis para o crescimento de microrganismos por apresentarem orifícios que facilitam a retenção de resíduos alimentares e umidade. Devido a essas condições, as esponjas podem ser veículo de contaminação cruzada por transferirem microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes de superfícies para os alimentos. Por esses motivos, métodos de desinfecção devem ser adotados a fim de diminuir a contaminação microbiológica de esponjas o que diminui o risco de contaminação cruzada (ROSSI, 2012).

Este estudo objetivou avaliar a contaminação microbiológica de esponjas utilizadas para higienização de utensílios e equipamentos de estabelecimentos comerciais de alimentação e verificar a eficiência de métodos físicos ou químicos na desinfecção dessas esponjas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta e preparo das amostras

Foi coletado um total de dez esponjas de poliuretano de unidades de alimentação na cidade de Montes Claros – MG, tais como: restaurantes, bares, lanchonetes e padarias, com diferentes tempos de utilização. As esponjas foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis e transportadas em caixas de isopor para o Laboratório de Microbiologia do Instituto de

Ciências Agrárias da UFMG. Em seguida, foram cortadas assepticamente em quatro partes iguais para aplicação dos seguintes tratamentos: fervura por cinco minutos em 300 mL de água destilada esterilizada, imersão em 300 mL de soluções de hipoclorito de sódio a 100 e 200 mg·L⁻¹ por 15 min a temperatura de 26 ± 3°C. Para a neutralização do hipoclorito de sódio, as amostras foram imersas em tiosulfato de sódio a 0,25 % por 15 min. Para verificar contaminação microbiológica inicial de cada esponja, a parte restante foi analisada sem nenhum tipo de tratamento.

2.2. Análises microbiológicas

As amostras foram analisadas quanto à presença de coliformes a 45 °C, bactérias mesófilas aeróbias e fungos filamentosos e leveduras conforme metodologias descritas por Evancho et al. (2001). Os resultados foram expressos em log UFC/esponja.

2.3. Isolamento de bactérias

Após as análises das esponjas quanto à presença de coliformes a 45 °C, os tubos contendo caldo *Escherichia coli* (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) considerados positivos, ou seja, aqueles que apresentaram turvação e produção de gás após 24 h, foram utilizados para o isolamento de bactérias. O isolamento consistiu na retirada de uma alçada das amostras presentes nesses tubos, seguido de esgotamento em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) pela técnica de estria. Estas placas foram incubadas a 37 °C por 24 h, com posterior observação do desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto com brilho metálico). Cinco colônias típicas foram selecionadas e incubadas em tubos de ensaio contendo meio Rugai para triagem bioquímica presuntiva inicial conforme metodologias descritas por Pessoa e Silva (1972). O procedimento consistiu na inoculação de uma colônia típica com o auxílio de alça bacteriológica. A alça foi introduzida até a parte inferior do tubo e ao retirá-la, semeou-se a superfície do meio realizando estria simples. As colônias bioquimicamente compatíveis com *Escherichia coli* foram submetidas à análise proteômica.

2.5. Identificação do isolado de bactéria

Para identificação da cepa isolada realizou-se análise proteômica seguindo o protocolo de extração padrão adaptado de Freiwald e Sauer (2009). Uma alçada de cultura bacteriana pura foi ressuspensa em 1,2 mL de solução de etanol 75%. A amostra foi centrifugada e o sobrenadante foi removido. Foi adicionado 50 µL de acetronitrila, ácido

fórmico e água (50:35:15 v/v) ao pellet formado, o qual sofreu agitação em vortéx durante 1 min para extração de células. Foi realizada uma segunda centrifugação e 0,3 µL de sobrenadante foi depositado em uma placa com três poços e este foi seco em temperatura ambiente. Adicionou-se 0,3 µL de uma solução saturada de alpha-ciano-4-ácido-hidroxicianídrico, acetonitrila, água e ácido trifluoroacético TFA (50:47:5:2,5 v/v).

A análise por Matrix-assisted laser desorption/ionization - time of flight – mass spectroscopy (MALDI-TOF MS) foi realizada segundo Dusková et al. (2012), utilizando Microflex TM MALDI-TOF MS (BrukerDaltonics, Billerica, Massachusetts, EUA). As identificações foram expressas por BioTyper log (scores), indicando a similaridade da cepa desconhecida por MALDI TOF MS com o perfil disponível em bancos de dados.

2.4. Perfil de sensibilidade do isolado

Após isolamento e identificação, o isolado da bactéria foi submetido ao teste de sensibilidade a antimicrobianos e hipoclorito de sódio. O teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) foi realizado de acordo com o NCCLS (2005) e conduzido em duplicata. Colônias das bactérias crescidas em placas contendo Ágar padrão para contagem de microrganismos (PCA) (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) foram suspensas em solução de Cloreto de Sódio (NaCl) a 0,85% até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala Mac Farland. Em placas de Ágar Mueller-Hinton (HIMEDIA[®], Mumbai, Índia) inoculou-se 200 µL da suspensão que foram espalhados com o auxílio de *swabs* estéreis. Sobre a superfície desse meio adicionou-se discos de antimicrobianos: cloranfenicol 30 µg, gentamicina 10 µg, ciprofloxacina 5 µg, sulfazotrim 25 µg e norfloxacina 10 µg (NCCLS, 2005). As placas foram incubadas em estufa BOD a 35°C por 24 horas e os diâmetros dos halos de inibição mensurados em milímetros (mm), para que as bactérias fossem classificadas como resistentes ou sensíveis. Além disso, foram testados juntamente com os discos de antimicrobianos, discos embebidos com solução de hipoclorito de sódio, a título de comparação. Para isso, discos de papel filtro com 5 mm de diâmetro foram autoclavados e impregnados com 20 µL de solução de hipoclorito de sódio na concentração de 100 mg.L⁻¹ e 200 mg.L⁻¹.

2.5. Análise estatística

O experimento foi conduzido segundo um Delineamento Inteiramente Casualizado com dez repetições, sendo cada esponja equivalente a uma repetição. Os resultados foram analisados por meio de ANOVA seguida de teste de Tukey para avaliar as médias das contagens dos microrganismos nas esponjas. As análises estatísticas foram realizadas a 1% de

probabilidade e os resultados foram analisados com o auxílio do programa Sistema de Análises Estatísticas – SAEG versão 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises microbiológicas

As esponjas analisadas apresentaram contaminação média inicial por microrganismos MA de 9,1 log UFC/esponja (Figura 1). Com a aplicação dos tratamentos, houve redução da carga microbiana inicial. Essa alta contagem de MA pode indicar presença de patógenos, pois a maioria dos microrganismos patogênicos pertencem a esse grupo. Nos tratamentos com hipoclorito 100 e 200 mg.L⁻¹ a contagem média foi de 6,6 e 6,7 log UFC/esponja respectivamente, no tratamento com fervura a contagem média obtida foi 0,5 log UFC/esponja, com redução de 8,6 log UFC/esponja em relação a contaminação encontrada sem nenhum tipo de tratamento. Esses resultados demonstram que a fervura foi o tratamento mais eficiente na diminuição da contaminação por mesófilos aeróbios (Tabela 1).

Tabela 1 – Contagem de microrganismos (log de UFC/esponja) em esponjas coletadas em unidades de alimentação antes e após tratamentos de sanitização. Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade.

	Contaminação inicial	Hipoclorito 100 mg.L ⁻¹	Hipoclorito 200 mg.L ⁻¹	Fervura
Mesófilos Aeróbios	9,139 ^a	6,576 ^b	6,69 ^b	0,5 ^c
Fungos Filamentosos e Leveduras	8,197 ^a	6,637 ^b	6,357 ^b	0,5 ^c
Coliformes a 45 °C	5,724 ^a	2,843 ^b	2,78 ^b	0,1 ^c

Fonte: Do autor, 2018.

Neste estudo, o resultado para contaminação média inicial por MA condiz com o verificado por Rossi et al. (2012) em estudo com esponjas usadas em serviços de alimentação, onde a média obtida foi 9,1 log UFC/esponja.

Considerando a análise de FL, a contagem inicial obtida foi 8,2 Log UFC/esponja. Após o processo de fervura por cinco minutos, soluções de hipoclorito a 100 e 200 mg.L⁻¹, obteve-se uma redução média de 7,7; 1,8 e 1,6 log de UFC/esponja, respectivamente (Tabela 1). Observou-se então que a fervura promoveu maior redução de FL nas esponjas.

Todas as amostras avaliadas apresentaram contaminação por coliformes a 45 °C com uma contagem inicial média de 5,7 log UFC/esponja. A presença de CF nas esponjas pode sugerir contaminação direta ou indireta por material fecal, onde microrganismos patogênicos podem estar presentes, como por exemplo, a espécie *Escherichia coli*. Esse resultado foi semelhante ao de estudos realizados por Josephson et al. (1997) e Ojima et al. (2002), que relataram que a maioria das esponjas coletadas nos Estados Unidos e no Japão apresentaram contaminação por coliformes. Nos resultados obtidos para as soluções de hipoclorito 100 e 200 mg·L⁻¹ o valor foi 2,8 log UFC/esponja. No tratamento com fervura, obteve-se 0,1 log UFC/esponja (Tabela 1). Desta forma, analisando o valor da contaminação inicial das esponjas por coliformes com as contagens encontradas após aplicação dos tratamentos, pode-se afirmar que a fervura obteve maior eficiência, com uma redução de 5,6 log UFC/esponja.

Apesar de não existirem padrões microbiológicos para esponjas, a Portaria 78/2009 publicada pela Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul afirma que esponjas de limpeza quando utilizadas em superfícies que entram em contato com alimentos, devem ser desinfetadas diariamente, por fervura em água, por no mínimo 5 minutos ou outro método adequado, contudo, não foi divulgado nenhum embasamento científico desse procedimento (BRASIL, 2009).

Neste presente estudo, foi possível observar que houve redução da carga microbiana após a aplicação de todos os tratamentos (Tabela 1). Observou-se ainda que não houve diferença entre os tratamentos com soluções de hipoclorito de sódio a 100 e 200 mg·L⁻¹, sendo assim, a elevação da concentração da solução de hipoclorito de sódio, não interferiu na redução da contaminação inicial. A menor eficiência na redução de ciclos logarítmicos verificada após a utilização desse sanitizante em ambas concentrações pode ser explicada pela presença de matéria orgânica nas esponjas, bem como o tempo de uso médio (SHARMA; EASTRIDGE; MUDD, 2009; KUSUMANINGRUM et al. 2002; KOTULA et al.,1997).

Comparando-se os tratamentos, nota-se que todos os métodos foram eficientes na redução da contaminação, no entanto, a fervura foi mais eficaz na inativação de microrganismos, confirmando o resultado obtido por Rossi et al (2012).

Park et al. (2006) e Sharma; Eastridge; Mudd (2009) atribuem a efetividade da fervura na redução de microrganismos à água dentro das esponjas, a qual pode gerar vapor e desnaturar proteínas que, conseqüentemente, irá destruir a integridade das membranas, causando a morte das células microbianas. Segundo Rossi et al. (2012) durante a fervura em água, ocorre a movimentação da esponja dentro do líquido, o que possibilita a remoção de boa

parte da matéria orgânica e com isso, melhor penetração do calor. Enquanto o tratamento com as soluções de hipoclorito de sódio é realizado de maneira estática, sendo assim, a ausência de movimentação pode ter dificultado/influenciado na inativação de microrganismos. Segundo Grezzi (2008) quando o cloro é adicionado à água, forma ácido hipocloroso (HClO), que por sua vez, tem a capacidade de penetrar na célula bacteriana e liberar o oxigênio, o qual oxida componentes essenciais do protoplasma bacteriano, causando a morte celular.

3.2. Identificação do isolado

Após resultado positivo para a triagem bioquímica em rugai, a cepa isolada em estudo foi identificada por análise proteômica como *Escherichia coli* com 99,9% de similaridade com o perfil disponível no banco de dados. Este resultado é preocupante, visto que, a identificação de *E. coli* em um utensílio utilizado em unidades de alimentação pode ocasionar contaminação cruzada.

3.3. Perfil de sensibilidade

A cepa de *E. coli* isolada das esponjas foi sensível a todos os antimicrobianos testados, exceto para o hipoclorito de sódio, cujos halos de inibição estão descritos na Tabela 2. Ranolfi (2014) ao analisar cepas de *E. coli* isoladas de alimentos de origem animal também obteve sensibilidade bacteriana aos antibióticos Clorafenicol, Gentamicina, Ciprofloxacina e Norfloxacina.

Tabela 2 - Média dos halos de inibição (mm) do crescimento bacteriano *Escherichia coli* isolada de esponjas de poliuretano frente a antimicrobianos e hipoclorito de sódio

Antibióticos	Isolado
Clorafenicol 30 µg	25,0
Gentamicina 10 µg	22,0
Ciprofloxacina 5 µg	32,5
Sulfazotrim 25 µg	24,0
Norfloxacina 10 µg	32,5
Hipoclorito de sódio 100 mg.L ⁻¹	0,0
Hipoclorito de sódio 200 mg.L ⁻¹	0,0

Fonte: Do autor, 2018.

É importante ressaltar que é de extrema importância a continuidade deste trabalho, no que diz respeito à quantificação de outros microrganismos patogênicos que podem estar

presentes nas esponjas. Por esse motivo, o processo de sanitização das esponjas é muito importante, visto que, contaminações cruzadas podem transferir microrganismos suficientes para causar doenças veiculadas por alimentos ou ainda inconvenientes mais graves (SCOTT; BLOOMFIELD, 1990).

4. CONCLUSÃO

Os métodos de desinfecção avaliados reduziram as contagens microbiológicas, mas a fervura foi mais eficaz quando comparada com as soluções de hipoclorito de sódio, além de ser acessível e de baixo custo, possibilitando seu emprego nas unidades de alimentação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Portaria n. 78 de 28 de janeiro de 2009 da Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, “Aprova a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, Aprova as Normas Para os Cursos de Capacitação em Boas Práticas Para Serviços de Alimentação e dá Outras Providências.” **Diário Oficial da União**, Porto Alegre, RS, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças transmitidas por alimentos**. Brasília, DF, 2017. Disponível em: < <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>> Acesso em: 15 jun. 2018.

DUSKOVÁ, M.; SEDO, O.; KSICOVÁ, K.; ZDRAHÁL, Z.; KARPÍSKOVÁ, R. Identification of *lactobacilli* isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. **Int. J. Food Microbiology**, v. 159, p. 107–114, 2012.

EVANCHO, G. M.; SVEUM, W. H.; MOBERG, L. J.; FRANK, J. F. Microbiological Monitoring of the Food Processing Environment. In: DOWNES, F. P., ITO, K. (Ed). **Compendium methode for the microbiological examination of foods**. 4thed Washington: APHA, 2001. cap. 3, p. 25-35

FREIWALD, A.; SAUER, S. Phylogenetic classification and identification of bacteria by mass spectrometry. **Nature Protocols**, v. 4, p. 732-742, 2009.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. (2009). Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**, 130, 77-87.

GREZZI, G. **Limpeza e desinfecção na avicultura**. Artigo Técnico. 2008. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/limpezadesinfeccao-avicultura-t100/165-p0.html>> Acesso em: 15 jun. 2018.

JOSEPHSON, K. L. et al. Characterization and quantification of bacterial pathogens and indicator organisms in household kitchens with and without the use disinfectant cleaner, **Journal of Applied Microbiology**, v. 83, n. 13, p. 737-750, abr. 1997. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.1997.00308.x/epdf>> Acesso em: 1 abr. 2015.

KORNACK, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: DOWNES, F. P., ITO, K. (Ed). **Compendium methode for the microbiological examination of foods**. 4thed Washington: APHA, 2001. cap. 8, p. 69-82.

KOTULA, K. L. et al. Reductions of aqueous chlorine by organic material. **Journal of Food Protection**, v. 60, p. 276-282, 1997.

KUSUMANINGRUM, H.D. et al. Effects of dishwashing liquid on foodborne pathogens and competitive microorganisms in kitchen sponges. **Journal of food protection**, v.65, n.1, p. 61-65, 2002.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Fifteenth Informational Supplement**. [Online]. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN 1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA. (2005). Disponível em:< http://www.anvisa.gov.br/servicosau de/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf> Acesso em: 30 mar. 2015.

OLIVEIRA, A. M. et al. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 114/115, nov./dez. 2003.

OJIMA, M. et al. Hygiene measures considering actual distributions of microorganisms in Japanese households, **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 800-809, out. 2002. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2002.01746.x/epdf>> Acesso em: 1 abr. 2015.

PARK, D.; BITTON, G.; MELKER R. Microbial inactivation by microwave radiation in the home environment. **Journal of Environmental Health**, v. 69, n.5, p. 17-24, 2006.

PESSOA, G.V.A.; SILVA, E.A.M. Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.32, p.97-100, 1972.

RANOLFI, T. **Perfil de sensibilidade *in vitro* de *Escherichia coli* isolados de alimentos de origem animal**. 2014. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

ROSSI, E. M.; SCAPIN, D.; GRANDO, W. F.; TONDO, E. C. Microbiological contamination and disinfection procedures of kitchen sponges used in food services. **Food and Nutrition Sciences**, v. 3, p. 975-980, jul. 2012.

SHARMA, M.; EASTRIDGE, J.; MUDD, C. Effective household disinfection methods of kitchen sponges. **Food Control**, n. 20, p. 310-313, 2009.

SMITH, J. L.; FRATAMICO, P. M. Factores involved in the emergence and persistence of foodborne diseases. **Journal of Food Protection**, v. 40, n. 6, p. 415-422, 1997.

SCOTT, E; BLOOMFIELD, S.F. Investigations of effectiveness of detergent washing, drying and chemical disinfection on contamination of cleaning cloths. **Journal Applied Bacteriology**, v. 68, n. 3, p. 279-283, mar, 1990.