



**UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**CLARA DAYANA RODRIGUES RAYOL**

**PESQUISA DE *Pseudomonas aeruginosa* EM ÁGUA DE ESTABELECIMENTOS  
QUE PRODUZEM E/OU COMERCIALIZAM ALIMENTOS NO MUNICÍPIO  
DE SÃO LUÍS- MA**

SÃO LUÍS

2017

**CLARA DAYANA RODRIGUES RAYOL**

**PESQUISA DE *Pseudomonas aeruginosa* EM ÁGUA DE ESTABELECIMENTOS  
QUE PRODUZEM E/OU COMERCIALIZAM ALIMENTOS NO MUNICÍPIO  
DE SÃO LUÍS- MA**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Felício Garino Júnior

SÃO LUÍS

2017

Rayol, Clara Dayana Rodrigues.

Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* em água de estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos no município de São Luís - MA / Clara Dayana Rodrigues Rayol. – São Luís, 2017.

45f

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof. Dr. Felício Garino Júnior.

**CLARA DAYANA RODRIGUES RAYOL**

**PESQUISA DE *Pseudomonas aeruginosa* EM ÁGUA DE ESTABELECIMENTOS  
QUE PRODUZEM E/OU COMERCIALIZAM ÁGUA NO MUNICÍPIO DE SÃO  
LUÍS- MA**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso  
de Medicina Veterinária da Universidade  
Estadual do Maranhão (UEMA) como requisito  
para a obtenção do grau de Bacharel em  
Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Felício Garino Júnior

Aprovada em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 20\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Felício Garino Júnior**

Doutor em Microbiologia  
UFMA/UEMA

---

**Luciana da Silva Bastos**

Doutoranda em Ciências da Saúde  
UFMA

---

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nancyleni Pinto Chaves Bezerra**

Doutora em Biotecnologia  
RENORBIO/UEMA

## **LISTA DE SIGLAS**

**ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**APPCC** - Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle

**ATCC** - American Type Culture Collection

**BPF** - Boas Práticas de Fabricação

**CAEMA** - Companhia de Saneamento Ambiental do Maranhão

**CLSI** - Clinical and Laboratory Standards Institute

**CVE** - Centro de Vigilância Epidemiológica

**DTAs** - Doenças Transmitidas por Alimentos

**FC** - Fibrose Cística

**INCQS** - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

**ITU** - Infecções do Trato Urinário

**MS** - Ministério da Saúde

**NMP** - Número Mais Provável

**OMS** - Organização Mundial da Saúde

**PCCs** - Pontos Críticos de Controle

**RDC** - Resolução da Diretoria Colegiada

**SAC**- Solução Alternativa Coletiva

**TSI** - Triple Sugar Iron

**UEMA** - Universidade Estadual do Maranhão

**UFCs** - Unidade de Formação de Colônias

**U.V** - Ultra-Violeta

**WHO/FAO**- Food and Agriculture Organization

*“Porque Dele e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente. Amém.”*

(Romanos 11: 36)

## AGRADECIMENTOS

A Deus por sua infinita graça e misericórdia, sem Ele nada eu poderia fazer.

À Universidade Estadual do Maranhão pelo acolhimento nos anos de graduação.

Ao meu orientador Felício Garino Júnior por sempre acreditar em mim e me ajudar a alcançar lugares mais altos.

À minha família na pessoa da minha mãe Maria Alcioneida Rodrigues da Silva e meu pai Luís Fernando Lindoso Rayol.

À minha prima Joicylene Rodrigues Gusmão, que é como uma irmã para mim, às minhas tias Deusa e Isabel e todos meus familiares.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram e me ajudaram em especial, Harly Asaph Fernandes Rios, Rayane Thais Abreu e Ana Carolina Lima Costa.

Aos meus amigos de graduação e vida, Marcia Gabrielle Rabelo Melo, Maria de Fátima, Tassia Aires e Thaliane França.

À Rose do Laboratório de Físico-química da água da Universidade Estadual do Maranhão, que muito me ajudou durante a prática da pesquisa.

À Professora Nancyleni Pinto Chaves Bezerra e a Luciana da Silva Bastos por todo apoio e incentivo.

A todos meus amigos e irmãos da Igreja Assembleia de Deus da Praça da Alegria.

A todos que de alguma forma me ajudaram a chegar até aqui.

## RESUMO

A qualidade microbiológica da água utilizada na produção e processamento de alimentos apresenta importância quanto à garantia de qualidade, a prevenção da contaminação dos alimentos e em relação aos efeitos adversos a saúde pelo uso ou consumo de alimentos. O objetivo deste estudo foi pesquisar a ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de água utilizadas em estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos na cidade de São Luís – MA. Foram avaliadas 30 amostras de água. Foi utilizado o método de número mais provável para a quantificação da *P. aeruginosa*. Das 30 amostras, 11 (36,66%) foram positivas e 19 (63,33%) negativas. Das 11 positivas 7/24 (29,26%) foram do sistema de abastecimento público (CAEMA) e 4/6 (66,66%) foram amostras de poços artesianos. A maioria das amostras positivas foi isolada de água proveniente de restaurantes. A variação da contagem foi de 1,1 a 16,1 NMP/100 mL. Os resultados deste trabalho demonstram a importância de monitorar a qualidade microbiológica da água utilizada em estabelecimentos que produzem alimentos, além da implantação das Boas Práticas de Fabricação.

**Palavras-chave:** micro-organismos, qualidade de água, saúde pública.

## ABSTRACT

The microbiological water quality used in food production and processing is important to assure the quality, the prevention of food contamination and adverse health effects associated with the consumption or use of the food products. The aim of this paper is to evaluate the *Pseudomonas auriginosa* in water used in establishments that produce and/or sell food in the São Luís city, in the state of Maranhão - Brazil. We evaluated 30 water samples. The most probable number method is used for enumeration of *P. auriginosa*. Of the 30 water samples, 11 (36.66%) were positive and 19 (63.33%) were negative. The 7/24 (29.16%) samples obtained from public water supply and 4/6 (66.66%) artesian wells were positive to *P.auriginosa*. The total samples (11) positive to *P.auriginosa* were from the restaurant. The variation counts range from 1.1 to 16.1 MPN/100 ml. The results of this work showed the importance of monitoring microbial water quality and implementation of Good Practices in food production.

Keywords: Microorganisms, water quality, public health.

## SUMÁRIO

|     |   |    |
|-----|---|----|
| 1.  | INTRODUÇÃO .....  | 12 |
| 2.  | REVISÃO DE LITERATURA .....                                     | 14 |
| 2.1 | Segurança Alimentar.....  | 14 |
| 2.2 | Água.....   | 16 |
| 2.3 | Qualidade da água na produção e processamento de alimentos..... | 17 |
| 2.4 | Patógenos veiculados pela água.....                             | 17 |
| 2.5 | <i>Pseudomonas</i> (características do micro-organismo).....    | 18 |
| 2.6 | <i>Pseudomonas</i> - importância clínica.....                   | 19 |
| 2.7 | <i>Pseudomonas</i> spp em alimentos.....                        | 21 |
| 2.8 | <i>Pseudomonas</i> em água.....                                 | 22 |
| 3.  | OBJETIVOS .....   | 24 |
| 3.1 | Geral .....   | 24 |
| 3.2 | Específicos.....  | 24 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.    | METODOLOGIA.....  | 25 |
| 4.1   | Amostra e local.....  | 25 |
| 4.2   | Análises microbiológicas.....   | 26 |
| 4.2.1 | Teste presuntivo para <i>pseudomonas</i> sp (técnica de tubos múltiplos- nmp/100 ml)..... | 26 |
| 4.2.2 | Prova confirmatória .....   | 26 |
| 4.3   | Susceptibilidade <i>in vitro</i> .....  | 27 |
| 4.4   | Análise estatística.....  | 27 |
| 5.    | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 28 |
| 6.    | CONCLUSÃO .....   | 36 |
| 7.    | REFERÊNCIAS.....  | 37 |
|       | ANEXO.....  | 45 |

## 1. INTRODUÇÃO

Os alimentos representam importância em saúde pública, por apresentarem risco de veiculação de agentes patogênicos, principalmente por causarem DTAs - Doenças transmitidas por Alimentos (TAUXE, 2002).

No Brasil, a epidemiologia das doenças transmitidas por alimentos e água tem demonstrado alta incidência de casos, principalmente por agentes bacterianos (BRASIL, 2010).

A contaminação dos alimentos pode ocorrer nas diversas fases de produção, embalagem, transporte e comercialização (MARINS et al, 2014). Uma das etapas que pode ser considerada de risco na contaminação dos alimentos é a utilização de água, onde a mesma pode ser adicionada aos alimentos ou utilizada na higienização e cozimento destes.

A água para consumo humano pode apresentar uma variedade de micro-organismos patogênicos, incluindo bactérias entéricas aeróbicas e anaeróbicas, vírus, parasitas e toxinas bacterianas (TAUXE, 2002). A contaminação dos alimentos por via hídrica pode dar-se por meio da adição da água aos produtos alimentícios ou indiretamente através de contaminação cruzada (MARINS et al, 2014).

Segundo a Portaria Nº. 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde a água potável é a que atende ao padrão de potabilidade e que não oferece riscos à saúde (BRASIL, 2011). No que se refere aos estabelecimentos como bares, padarias, restaurantes, lanchonetes, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – preconiza que a qualidade da água utilizada no preparo de alimentos deve atender às normas da legislação, estabelecida pela Resolução nº 216 que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação (BRASIL, 2004). A regulamentação mais restritiva é a de água mineral (RDC 275/05 ) que estabelece que tal, seja livre de bactérias patogênicas, como a *Pseudomonas aeruginosa*. (GUERRA et al., 2006)

Para a avaliação da qualidade microbiológica da água, os coliformes totais, coliformes termotolerantes e/ou *Escherichia coli*, clostrídios sulfito redutores à 46°C, *Enterococos*, *Pseudomonas aeruginosa* e a contagem de bactérias heterotróficas, são considerados como indicadores de contaminação (SANT'ANA et al., 2003).

O gênero *Pseudomonas* é um grande grupo de bactérias de vida livre que habitam principalmente no solo, na água do mar, e água doce. São ubiqüitárias, podendo

também colonizar plantas e animais, e são frequentemente encontradas em ambientes domésticos e hospitalares. São altamente versáteis e podem adaptar-se a uma vasta gama de habitats. Esta adaptação é a responsável por sua constante presença no ambiente (MENA; GERBA, 2009).

A *Pseudomonas aeruginosa* é a espécie que mais se destaca. Pois apresenta problemática econômica por ser deteriorante de alimentos, e, portanto, causadora de prejuízos. Em humanos, é responsável por doenças de pele e olhos, sendo também causa de doenças graves e potencialmente fatais; além de infecções em queimaduras, em pacientes cirúrgicos e em indivíduos imunocomprometidos. Sendo também comumente associada à contaminação das águas de recreação e água de abastecimento público (MENA; GERBA, 2009).

A *P. aeruginosa* é a principal espécie do gênero encontrada em água potável. Este micro-organismo tem despertado a preocupação quando em águas de abastecimento por apresentar risco de exposição a idosos, recém-nascidos e pacientes imunocomprometidos (MENA; GERBA, 2009).

Além da versatilidade apresentada por essa espécie de *Pseudomonas*, esta apresenta vários fatores de virulência. Dentre eles, destaca-se o amplo espectro de resistência aos antimicrobianos e desinfetantes, demonstrando com isso sua importância em saúde pública (MENA; GERBA, 2009).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Segurança Alimentar

Segurança alimentar é um termo relacionado a um conjunto de boas práticas que devem ser adotadas desde a produção até o armazenamento dos alimentos, visando a qualidade para o consumo humano. A qualidade higiênico - sanitária como fator de segurança alimentar, vem sendo amplamente discutida e estudada, uma vez que as doenças veiculadas por alimentos são um dos principais fatores que contribuem para a alta taxa de morbidade em países da América Latina. O comitê WHO/FAO admite que doenças oriundas de alimentos sejam uma das maiores preocupações do mundo contemporâneo (WEINGOLD et al., 1994).

Especificamente no Brasil, a questão de segurança alimentar vem sendo amplamente discutida, a segurança dos alimentos exige que o controle da qualidade e da inocuidade seja realizado em toda a cadeia alimentar, desde produção, armazenagem, distribuição, processamento, até o consumo do alimento, *in natura* ou processado. O controle da qualidade dos alimentos é de responsabilidade de todos os envolvidos nessas atividades: órgãos governamentais, setor regulado e consumidores (JACOB 2014).

O *Codex Alimentarius* acompanha todo o processo da cadeia de alimentos, desde a produção primária até o consumidor final, estabelecendo as condições de higiene necessárias para a produção de alimentos seguros e adequados (*Codex Alimentarius* 2006). GALHARDI (2002), citado por Silva e Almeida (2011), confirma as BPF (Boas Práticas de Fabricação) como pré-requisitos fundamentais para a implantação do sistema de APPCC (Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle), considerado parte integrante das medidas de segurança alimentar e ponto referencial para produção de normas reguladoras (legislação) da produção de alimentos.

A RESOLUÇÃO-RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) N° 216, de 15 de setembro de 2004, dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Segundo esta resolução Boas Práticas são procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade com a legislação sanitária (BRASIL, 2004).

A análise de perigos é, sem dúvida, a peça chave para todo o sistema, principalmente para a determinação dos PCCs (Pontos Críticos de Controle). Estes perigos à saúde do consumidor são classificados em três: químicos, físicos e biológicos. Os perigos biológicos compreendem bactérias patogênicas e suas toxinas, vírus, parasitas e príons; dos perigos químicos tem-se como exemplos os defensivos agrícolas, antibióticos, micotoxinas ou sanitizantes. Os perigos físicos são os mais comumente identificados (pêlos, fragmentos de osso ou de metal, etc). Do ponto de vista da saúde pública, os perigos biológicos são os mais sérios, e representam a grande maioria das ocorrências totais ocasionadas, principalmente por bactérias. Por esta razão, os perigos biológicos devem se abordar mais detalhadamente (FURTINE e ABREU, 2006).

Segundo Campos, Oliveira e Vendramini (2011), cerca de duzentas doenças podem ser veiculadas por alimentos. Tais doenças têm constituído um problema mundial, apesar dos avanços tecnológicos empregados. A contaminação dos alimentos é decorrente de falhas na cadeia produtiva e é indicada pela presença de contaminantes biológicos, químicos e físicos. Em relação ao consumo de alimentos, estudos realizados por Feitosa, Bruno e Borges em 2008 apontam que as doenças de origem biológica transmitidas por alimento (DTAs) têm aumentado significativamente nos países desenvolvidos. Esse aumento provavelmente também ocorre nos países em desenvolvimento, porém, neles as informações quantitativas são mais carentes, o que dificulta os enunciados numéricos que caracterizam o perfil estatístico de DTAs. Com relação ao Brasil, mais de 60 % das DTAs são causadas por *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*. Elas tanto são decorrentes do estado natural dos alimentos quanto provenientes do seu processamento.

É importante ressaltar que uma das dificuldades com a segurança alimentar, no que se refere a alimentos seguros, é a quem deve se atribuir a responsabilidade pela quebra da inocuidade alimentar, pois os fabricantes podem fornecer alimentos seguros, mas havendo negligência por parte dos consumidores, os alimentos podem facilmente tornarem-se perigosos, ou alimentos contaminados no seu ponto de origem podem colocar em risco até mesmos os consumidores que tomem todas as precauções necessárias (CAMPOS, OLIVEIRA E VENDRAMINI, 2014).

## 2.2 Água

A água tem influência direta sobre a saúde, a qualidade de vida e o desenvolvimento do ser humano. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS) e seus países membros, todas as pessoas, em quaisquer estágios de desenvolvimento e condições socioeconômicas têm o direito de ter acesso a um suprimento adequado de água potável e segura (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE, 2009).

A água distribuída à população humana deve ser potável, ou seja, segura para consumo, livre de contaminação microbiológica, química, física ou radiativa e de forma alguma deve oferecer riscos à saúde humana (BRASIL, 2004). Com base nisso, é importante monitorar as águas de abastecimentos públicos e observar se elas se encontram dentro dos padrões de potabilidade a fim de que não ofereçam riscos à saúde da população (FREITAS, 2002).

A água é fundamental para uma manipulação segura dos alimentos, pois ela é utilizada tanto como um ingrediente de preparo, como para higienização do ambiente, dos utensílios e equipamentos utilizados e também das mãos. É importante que a água seja potável, ou seja, livre de substâncias tóxicas, físicas e microbiológicas. A portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011, dispõe sobre os procedimentos de controle e qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Logo, água potável é aquela que atende ao padrão de potabilidade estabelecido nesta Portaria e que não ofereça riscos à saúde (FREITAS, 2002).

Segundo Tauxe (2002), o amplo espectro de infecções alimentares teve uma mudança drástica ao longo do tempo, os patógenos já conhecidos têm sido controlados e eliminados e novos têm surgido. Uma grande quantidade de patógenos de origem alimentar como variedade de bactérias entéricas, aeróbicos e anaeróbicos, vírus e parasitas, podem contaminar os humanos assim que suas toxinas ou os próprios patógenos são ingeridos através da água ou de alimentos contaminados.

A água é essencial para a vida e deve estar disponível para todos, melhorar o acesso à água de qualidade resulta em benefícios para a saúde. Os que possuem maior risco de se contaminarem por doenças transmitidas pela água são recém-nascidos, idosos e pessoas imunocomprometidas. (WHO, 1996). O propósito primário para a exigência da qualidade da água é a proteção à saúde pública. Os critérios adotados para assegurar essa qualidade têm por objetivo fornecer uma base para o desenvolvimento de ações que, se apropriadamente implementadas junto à população, garantirão a segurança

do fornecimento de água através da eliminação ou da redução mínima de constituintes na água conhecidos por serem perigosos à saúde (D'AGUILA et al., 2000).

### **2.3 Qualidade da água na produção e processamento de alimentos**

A água é utilizada na indústria de alimento nas funções de limpeza, higienização e no preparo dos alimentos. É importante ressaltar, que uma água com má condição microbiológica pode ser fonte de micro-organismos que irão causar enfermidade nos consumidores ou provocar a deterioração dos alimentos (AMARAL et al., 2007).

Segundo Frazier e Westhoff (1978), citados por Amaral et al. (2007), toda a água que se coloca em contato com o alimento deve cumprir os mesmos padrões microbiológicos da água de consumo humano. As análises utilizadas para avaliar as características microbiológicas da água são baseadas em teste de Contagem Padrão de Bactérias Heterotróficas e número de coliformes totais e termotolerantes (FIGUEIREDO, 1999; LEITE et al., 2003 apud CASTRO, 2006). Os critérios de qualidade da água na indústria se concentram em aspectos físicos, químicos e microbiológicos. A contagem de bactérias heterotróficas não deve exceder a 500 UFCs (Unidade de Formação de Colônias) por mL. Valores acima podem indicar necessidade de cloração, limpeza de reservatórios e proteção do sistema (FIGUEIREDO, 1999 apud CASTRO, 2006).

A água que entra em contato com os alimentos de origem animal, como, produtos de carne, leite, mel de abelha e outros, inclusive a usada para higienização de equipamentos nos abatedouros e indústrias, deve possuir o mesmo padrão microbiológico e de potabilidade da água para consumo humano (BALBANI E BUTUGAN, 2001).

### **2.4 Patógenos veiculados pela água**

A transmissão de doenças pela água ainda é um assunto de grande preocupação, apesar dos esforços mundiais e das modernas tecnologias que vêm sendo utilizados para a produção de água potável segura. Este problema não se limita aos países em desenvolvimento, onde o tratamento de água poderia não existir ou ser

insuficiente (SILVA et al., 2008). Diversos estudos confirmam que a veiculação hídrica de agentes etiológicos de caráter infeccioso ou parasitário são responsáveis pela grande incidência de doenças que afetam a população de forma geral.

Moraes e Jordão (2002) alegaram que cerca de 80% de todas as moléstias e mais de um terço dos óbitos sejam causados pelo consumo de água contaminada e que, em média, até um décimo do tempo produtivo de cada pessoa se perde devido a doenças relacionadas à água.

Os principais agentes biológicos descobertos nas águas contaminadas são as bactérias patogênicas, os vírus e os parasitas. As bactérias patogênicas encontradas na água e/ou alimentos constituem uma das principais fontes de morbidade em nosso meio. São as responsáveis pelos numerosos casos de enterites, disenterias infantis e doenças epidêmicas, como a febre tifóide (TAUXE 2002).

## **2.5 *Pseudomonas* sp. - Características**

O gênero *Pseudomonas*, é um grupo de microrganismos pertencente à família *Pseudomonaceae*, sendo composta pelas espécies *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P. mucidolens* (TODAR, 2004).

A *Pseudomonas aeruginosa* é a mais comumente associada com doença humana, pode ser encontrada no solo, na água, em ambientes hospitalares, equipamento de tratamento respiratório e diálise e até mesmo em soluções desinfetantes. (MENEZES et al., 2004). Leclerc e Moreau (2002) relatam que a *P. aeruginosa* é uma bactéria onipresente no ambiente.

*P. aeruginosa* pertence à família Pseudomonadaceae, apresenta-se como bacilo gram-negativo, aeróbio, móvel através de um flagelo polar (WHO, 2006). Esse bacilo apresenta-se sozinho, em pares ou em pequenas cadeias. Essa bactéria produz pigmentos fluorescentes e solúveis em água, como a piocianina e a pioverdina, o que acaba por facilitar a sua identificação. Ela cresce aerobicamente e não fermenta carboidratos. Outra característica analisada nessa espécie é o odor doce, semelhante à uva, vindo de suas colônias em meio de cultura (TORTORA, 2005).

Uma particularidade das *Pseudomonas* é sua capacidade de crescer em água, fonte de poucos nutrientes, a *P.aeruginosa* é frequentemente monitorizada como um

indicador de contaminação bacteriana de origem fecal. (SILVA, 2008). A sua baixa necessidade nutricional e sua predileção por crescimento em ambientes úmidos, contribui para sucesso ecológico e também como agente oportunista (POLLACK, 2000).

Um dos principais fatores de virulência associado à *P. aeruginosa* é a formação de biofilmes, que são complexos ecossistemas microbiológicos embebidos em uma matriz de polímeros orgânicos, aderidos a uma superfície. Os biofilmes estão envolvidos em infecções crônicas, lentas e resistentes aos tratamentos (MACEDO, 2004; BARCAT, 2005).

Segundo Tavares (2001 apud ALMEIDA, 2010), a *P. aeruginosa* estimula grande interesse em seu estudo pela comunidade científica, por sua extrema versatilidade metabólica, poder de adaptação e resistência a vários ambientes e antibióticos.

## **2.6 Pseudomonas - Importância clínica**

O gênero *Pseudomonas* tem sido relatado como patógeno no homem e animais, a *P. putida*, *P. fluorescens* e *P. aeruginosa* são as espécies comumente associadas a infecções em seres humano. Entretanto, a *P. aeruginosa* é a mais prevalente. Este micro-organismo é considerado como um agente patogênico oportunista, responsáveis por causar infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos, no entanto, é capaz de causar um amplo espectro de infecções em indivíduos que apresentam imunossuprimidos e/ou deficiências nutricionais. As principais infecções são do trato urinário, sistema respiratório, infecções dos tecidos moles, bacteremia e uma variedade de infecções sistêmicas. As fontes de contaminação em infecções hospitalares podem ser as mãos, instrumentos, utensílios e as fontes ambientais como a água contaminada (MENA; GERBA, 2009).

As infecções causadas por *P. aeruginosa* possuem alta taxa de morbidade e mortalidade, além de apresentar dificuldade no tratamento devido a carregarem múltipla resistência aos antimicrobianos (NEVES et al; 2011).

Em infecções do trato respiratório é bem conhecido por sua capacidade de estabelecer residência permanente nas vias aéreas em pacientes com fibrose cística (FC), resultando na recorrência de infecção pulmonar crônica, declínio progressivo da

função pulmonar e aumento das taxas de morbidade e mortalidade. A colonização do trato respiratório é iniciada pela contaminação do equipamento médico e/ou transversal à colonização de outros pacientes. A pneumonia adquirida é frequentemente associada ao uso de ventilação mecânica em pacientes hospitalizados. É um micro-organismo comumente isolado de equipamentos médicos hospitalares, devido à capacidade da bactéria de formar biofilmes (MENA; GERBA, 2009).

Nas infecções do trato urinário (ITU) causadas por *P. aeruginosa* ocorrem geralmente de forma secundária à cateterização, instrumentação ou cirurgia. É a principal causa de UTI nosocomial adquirida é a cateterização do trato urinário. Os cateteres funcionam como porta de entrada por agentes patogênicos, aderindo à superfície do cateter em biofilmes. Além disso, a inserção do cateter também pode perturbar as camadas epiteliais da mucosa e promover a colonização bacteriana (MENA; GERBA, 2009).

Infecções da pele e tecidos moles tem a *P. aeruginosa* como o agente mais isolado em feridas e queimaduras graves. Surtos nosocomiais por este micro-organismo têm sido relatados em feridas cirúrgicas pós-operatórias, além da possibilidade de difundir a partir do local da infecção inicial e entrar na corrente sanguínea, causando septicemia (MENA; GERBA, 2009).

Infecções cutâneas leves podem ocorrer em indivíduos saudáveis, associados à contaminação *P. aeruginosa* em piscinas, banheiras de hidromassagem e outras fontes de água. Também doenças de unhas (onicólise) são suscetíveis à colonização por *P. aeruginosa*, e é comumente referido como "síndrome da unha verde" (ANDRADE et al 2015).

A *P. aeruginosa* é a causa principal da queratite bacteriana, e ocorre em pacientes com doenças oculares pré-existentes, em pacientes de cirurgia pós-oculares e em indivíduos que usam lentes de contato. A otite externa é uma inflamação ou infecção do canal auditivo externo, devido à exposição prolongada à humidade e/ou a inserção de objetos estranhos (por exemplo, cotonetes), sendo a *P. aeruginosa* um dos principais agentes causador da doença, sendo fortemente associado com a natação em piscinas recreativas contaminadas ou mesmo pelo uso de água contaminada durante o banho (MENA; GERBA, 2009).

A ocorrência de DTAs por *Pseudomonas* como doença entérica é raro, sendo relatados três casos nas China e Canadá entre os anos de 1994 e 2005 (WANG et al 2007), não havendo relatos no Brasil. Entretanto, *Pseudomonas aeruginosa* está

listada como possível causa de cólicas abdominais e disenteria pelo Manual das doenças transmitidas por alimentos e água (CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica).

Outro fator importante em relação a infecções é a existência de cepas com múltipla resistência aos antimicrobianos, sendo considerado um problema endêmico no Brasil (NEVES et al., 2011). A múltipla resistência em *Pseudomonas aeruginosa* já foi demonstrada em diversos estudos, tanto de amostras clínicas (FIGUEIREDO et al 2007; GRÄF et al., 2008; PIRES et al 2009) como em amostras de água (PISANI et al., 2007; PARESI et al., 2011).

## **2.7 *Pseudomonas aeruginosa* em alimentos**

A *Pseudomonas aeruginosa* destaca-se na área de alimentos por pertencer ao grupo de micro-organismos deterioradores, apresentando atividade lipolítica e proteolítica (CARVALHO, 2010). As espécies *P. fluorescens*, *P. gravi* e *P. putida* são comumente associadas a este tipo de evento. Devido à capacidade de se multiplicar em condições mínimas nutrientes, ser veiculada pelo solo e água e serem psicrotróficas são amplamente estudadas em vários tipos de alimentos (GRAM et al, 2002). Em vegetais inteiros e minimamente processados, estes micro-organismos são responsáveis pelo escurecimento do produto, devido a sua atividade pectinolítica (GRAM et al, 2002).

Em alimentos de origem animal, essa bactéria, está associada à deterioração e a produção de toxinas (NYCHAS et al 2007). Os pescados são considerados um ótimo substrato para o crescimento destes micro-organismos, especialmente sob o armazenamento refrigerado ou congelado, sendo responsáveis pelo aparecimento de aromas anormais - aldeídos, cetonas e ésteres (GRAM, e DALGAARD 2002) e na presença de aminas biogênicas, que são responsáveis por intoxicações alimentares (VISCIANO et al, 2012).

O leite também pode sofrer a ação de *Pseudomonas* sp, pela ação de enzimas lipolíticas e proteolíticas termotolerantes que reduzem a qualidade e vida de prateleira do produto processado (GRAM et al, 2002).

A carne de frango e suína apresenta um alto risco de deterioração por micro-organismos psicrotróficos, sendo o processamento, estocagem e manipulação considerados fatores determinantes para a contaminação do produto (BRUCKNER, 2012).

No Brasil, estudos tem reportado a presença de *Pseudomonas* em carnes de frango, peixes e carne bovina de matadouros e comercializadas (ARAÚJO MAIA et al, 2009; ANJOS e SANTOS, 2010).

Outro fator relevante, no contexto de saúde pública, está relacionado a contaminação de alimentos em hospitais, principalmente pela *P. aeruginosa*, considerada um patógeno oportunista em seres humanos (CORREA et al 1990).

A presença de patógenos em alimentos frescos podem ser ocasionados pelo uso de águas residuais ou água não tratada na produção dos alimentos ou mesmo durante o processo de manipulação e preparação (BEUCHAT et al, 2002)

A *P. aeruginosa* é amplamente distribuída na natureza e é comumente isolada em ambientes úmidos, inclusive cozinhas e, portanto, ele pode prontamente contaminar os alimentos. No entanto, a ingestão de alimentos contaminado com *P. aeruginosa* raramente é associada a DTAs, pois faz parte da microbiota normal do trato gastrointestinal (MENA et al, 2009).

Estepa et al. (2015), afirmam que alimentos frescos, como vegetais podem ser contaminados pela *Pseudomonas* diretamente do solo, água de irrigação ou durante o preparo dos produtos. Em relação a carnes cruas, os mesmos autores indicam que a contaminação pode ocorrer pelas fezes durante o abate ou pelo ambiente. Deve-se ressaltar que o uso de água de má qualidade no preparo ou higienização de alimento pode ser considerado um fator de risco para a contaminação de alimentos por *Pseudomonas aeruginosa*.

## **2.8 *Pseudomonas* em água**

A água desempenha um importante papel na transmissão de *pseudomonas aureginosa*, que tem sido a principal espécie de *pseudomonas* transmitida pela ingestão de água. A *P. aeruginosa* pode sobreviver durante vários dias em água e é a segunda maior causa de surtos de doenças de recreação (natação, piscinas e banheiras de hidromassagem) (MENA E GERBA, 2015).

A capacidade de *P. aeruginosa* de crescer em água com baixos níveis de sólidos dissolvidos e compostos orgânicos vêm confirmar a sua habilidade de adaptar-se perfeitamente a ambientes nutricionalmente muito pobres. Estudos observaram que *P.*

*aeruginosa* foi capaz de crescer até mesmo em água destilada usada para diluir drogas administradas por injeção intravenosa (GUERRA et al., 2006).

Segundo Berth et al. (1998), citados por Mena e Gerba, 2009, a água da torneira é uma fonte importante de infecções nosocomiais, quando utilizada para preparar soluções, para lavar as mãos ou tomar banho, nos banhos de espuma, em equipamentos de diálise, nos tanques de imersão para soluções de aquecimento e de outros equipamentos hospitalares.

A presença de *P. aeruginosa* em águas de recreio tem sido associada com externas infecções do ouvido e da pele. Em 1995, a União Europeia publicou um projeto relativo à água potável, que incluiu um padrão máximo admissível para *P. aeruginosa* de zero por 250 mL de garrafas de água. (MENA; GERBA, 2015).

A Portaria 2.914/11 do Ministério da Saúde dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de portabilidade, ela regulamenta a qualidade do sistema municipal de abastecimento tendo como base a presença de coliformes e contagem de bactérias heterotróficas, no entanto, a regulamentação mais restritiva é a RDC 275/05 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) que estabelece o regulamento técnico de características microbiológicas para água mineral natural e água natural, onde é proibida a presença de bactérias potencialmente patogênicas, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos e clostrídios sulfito redutores ou *Clostridium perfringens* (GUERRA et al., 2006).

A bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, no Brasil tem sido considerada padrão em águas de abastecimento por se tratar de bactérias heterotróficas. Por sua versatilidade metabólica, a *Pseudomonas aeruginosa* apresentaria vantagens sobre os outros gêneros de micro-organismos na água (ZAVASCKI, 2003).

Segundo Queiroz (2002, apud DIAS, 2008), a presença de bactérias patogênicas oportunistas em água de consumo humano representa um problema latente para a população em geral. Os mais afetados são os imunodeficientes, recém-nascidos e idosos.

Diversos estudos têm encontrado altos números de *Pseudomonas aeruginosa*, nos líquidos usados para enxaguar as garrafas de vidro retornáveis apresentando um risco de contaminação, também, para água mineral (LEGNANI et al., 1999).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

- Pesquisar *Pseudomonas aeruginosa* em água de estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos no Município de São Luís - MA.

#### 3.2 Específicos

- Quantificar *Pseudomonas auriginosa* em amostras de água;
- Avaliar a susceptibilidade *in vitro* dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa* aos antimicrobianos;
- Verificar a existência de múltipla resistência em cepas isoladas em amostra de água.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Amostra e local

Foram coletadas amostras de água no mês de abril de 2016, em estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos de origem animal. Recolheram-se 30 amostras de diferentes estabelecimentos e em distintos bairros do município de São Luís. Os locais de coletas foram selecionados por conveniência. Tendo como critério a concordância com a participação voluntária na pesquisa. O quantitativo de amostras coletadas por bairro encontra-se esquematizado na Tabela 01.

**Tabela 01.** Relação das quantidades de coletas por bairro, São Luís – 2016.

| <b>Bairro</b>                  | <b>Quantidade de amostra coletada</b> |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Cidade Operária – habitacional | 15                                    |
| Cidade Operária– Uema          | 03                                    |
| Renascença                     | 01                                    |
| Rodoviária – Santo Antônio     | 02                                    |
| Santo Antônio – habitacional   | 04                                    |
| Vinhais                        | 01                                    |
| Diamante                       | 01                                    |
| Centro                         | 03                                    |
| <b>Total</b>                   | <b>30</b>                             |

As amostras de água foram da CAEMA (Companhia de Saneamento Ambiental do Maranhão) e 06 (20%) de da SAC (Solução Alternativa Coletiva- poços artesanais). Os estabelecimentos das coletas foram: restaurantes com 21 amostras , lanchonetes com 05 amostras e , frigorífico, galeteria, pousada e panificadora com 01 amostra cada. As amostras foram coletadas em frascos estéreis, e nas tratadas utilizou-se 0,2 ml de solução a 10% de tiosulfato de sódio para neutralizar a ação do cloro residual, mantidas sob refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão.

## **4.2 Análises microbiológicas**

Para o controle de qualidade dos testes presuntivos e confirmatórios foi utilizada a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 0026 (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde).

### **4.2.1 Teste presuntivo para *Pseudomonas* sp (Tubos Múltiplos- NMP/100 ml)**

No Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão, foram inoculados 10 mL da amostra em cada um dos dez tubos contendo caldo asparagina em concentração dupla, incubadas a 37 °C por 24 a 48 horas. Foram consideradas positivas, as amostras que apresentarem pigmentação esverdeada após o período de incubação e fluorescência sob ação de luz U.V.

### **4.2.2 Prova confirmatória**

As amostras que se apresentaram positivas no teste de tubos múltiplos, foram semeadas em placas de petri contendo *Pseudomonas* Ágar. Aquelas que apresentaram colônias com pigmentação cinza/esverdeada ou esverdeada foram consideradas como pertencentes ao gênero *Pseudomonas*.

A confirmação da espécie foi realizada por meio das seguintes provas bioquímicas: produção de sulfeto de hidrogênio - H<sub>2</sub>S (TSI – “Triple Sugar Iron”); hidrólise da uréia; produção de indol; mobilidade; fenilalanina, redução de nitrato, malonato, citrato, acidificação da glicose, trealose, sacarose, xilose e teste da oxidase (MURRAY, 1999). Para o cálculo do número mais provável de *P. aeruginosa* (NMP/100mL) foi empregando tabela (NMP “número mais provável”) apropriada (Anexo A).

### **4.3 Susceptibilidade *in vitro***

A realização do teste de susceptibilidade *in vitro* aos antimicrobianos, foi realizado pelo método de difusão de discos em placas contendo meio ágar Mueller-Hinton (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2015), foram utilizados discos com os seguintes antimicrobianos: imipinem 30 mcg, enrofloxacin 30 mcg, ampicilina 30 mcg, cloranfenicol 30 mcg, tetraciclina 30 mcg, , amicacina 30 mcg, norfloxacin 10 mcg, gentamicina 30 mcg, cefoxitina 30 mcg, , aztreonam 30 mcg e cefalexina 30 mcg. A interpretação dos resultados foi realizada com a leitura dos halos de inibição (CLSI, 2015). Para o teste de controle de qualidade foi utilizada a cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 (American Type Culture Collection).

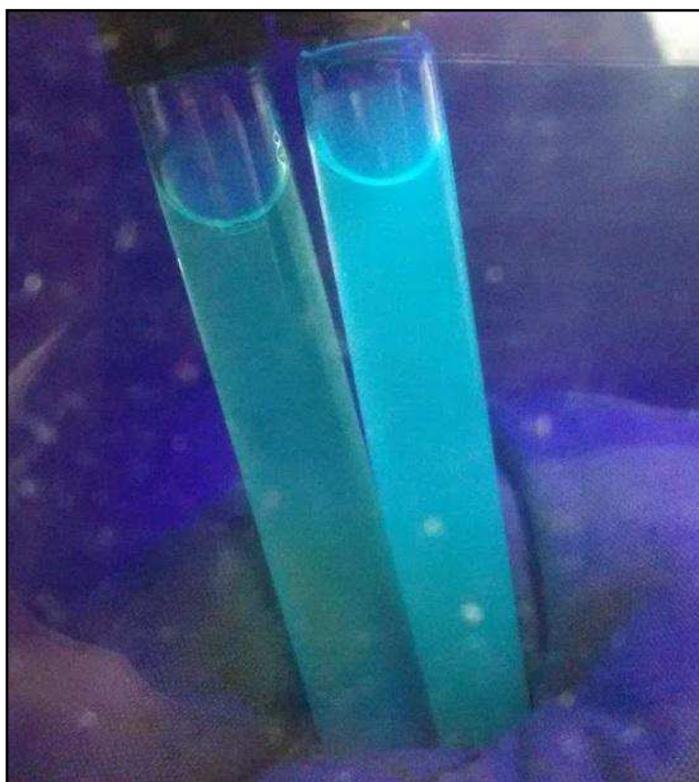
### **4.3 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas com o software GRAPHPAD INSTAT STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS FOR PERSONAL COMPUTERS.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 30 amostras de água submetidas ao teste presuntivo para *Pseudomonas*, 11 foram positivas (36,66%) e 19 negativas (63,33%). Houve crescimento de colônias com cores cinza esverdeadas nas placas de petri das 11 amostras positivas. Todas as amostras foram identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*. Na figura 01, pode-se observar a coloração esverdeada na água, demonstrando positividade para *Pseudomonas*. Na Figura 02, vê-se o crescimento de colônias cinzas esverdeadas nas placas de petri.

**Figura 01.** Resultado positivo no teste presuntivo para *Pseudomonas* sp (técnica de tubos multiplos-NMP/100 ml).



**Figura 02.** Crescimento de Colônias cinzas esverdeadas de *Pseudomonas* nas placas de petri.



No estudo realizado por Amaral et al. (2007), também foram encontrados resultados positivos para a presença de *Pseudomonas* em água, em estabelecimentos que comercializam produtos cárneos. Tais estudos são importantes, pois a água desses estabelecimentos pode ser uma fonte da bactéria *pseudomonas aeruginosa*, que além de deteriorar os alimentos, pode causar doenças na população, principalmente nos grupos de risco como imunocomprometidos, idosos e recém-nascidos. No presente trabalho, o número de contaminações foi elevado, lembrando que é necessário que a água que entra em contato com alimentos de consumo humano esteja livre de bactérias patogênicas.

Das amostras coletadas, a maior parte, 24 amostras (80%), foi originária da CAEMA (Companhia de Água e esgoto do Maranhão) e 06 (20%) de SAC (Solução Alternativa Coletiva- poços artesianos). Sendo que 07 (29,16%) das amostras da CAEMA foram positivas quanto à presença de *Pseudomonas*, enquanto das de poços artesianos 04 (66,66%) apresentaram resultados positivos. Em comparação aos dois tipos de origem da água, poço e água tratada (CAEMA), não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

Na Tabela 02 foi demonstrada a relação da contaminação das águas tratada e de SAC. Diante do resultado, pode-se observar que águas não tratadas (SAC) obtiveram um percentual um pouco maior de contaminação, pois sua falta de tratamento proporciona um ambiente ainda mais favorável para contaminação por *Pseudomonas aeruginosa*. Porém, não se pode descartar o percentual de contaminação (29,16%) da água tratada. Este dado demonstra que até mesmo em água tratada, essa bactéria encontra condições adequadas de sobrevivência. O que pode ser confirmado pelo trabalho de Guerra et al (2006), onde das 362 amostras de água tratada coletadas 31 (8,56%) apresentaram contaminação por *P. aeruginosa*.

**Tabela 02:** Relação das análises de águas que apresentaram resultado positivo para *Pseudomonas aeruginosa* de acordo com as suas origens (CAEMA e poço), São Luís- 2016.

|          | Água CAEMA  | Água SAC    | Total     |
|----------|-------------|-------------|-----------|
| Positivo | 07 (63,63%) | 04 (36,37%) | <b>11</b> |
| Negativo | 17 (89,47%) | 02 (10,53%) | <b>19</b> |

*Pseudomonas* são formadoras de biofilmes, Kasnowki 2010, cita em seu trabalho que essa bactéria é considerada uma das que mais coloniza redes hidráulicas. No presente trabalho pode-se confirmar que mesmo em água tratada é possível o crescimento dela. Isso devido à sua resistência, alta versatilidade e adaptação a diversos tipos de ambientes. Sendo assim, com relação à água da CAEMA, é possível ocorrer a formação de biofilmes nas redes hidráulicas que favoreçam a contaminação.

Com relação aos estabelecimentos, a maior parte foi de restaurantes, com 21 amostras, seguida por lanchonetes com 05 amostras, e um frigorífico, uma pousada, uma galeteria e uma panificadora, com 01 amostra cada. Das 11 amostras positivas, 10 tiveram como origem restaurante (90,90%), e 01, lanchonete (09,10%), sendo considerado estatisticamente significativo ( $P < 0,05$ ). Na Tabela 03 foi apresentada a relação das amostras positivas com o tipo de estabelecimento.

**Tabela 03.** Relação das análises das amostras de água que apresentaram resultado positivo para *Pseudomonas aeruginosa*, de acordo com o tipo de estabelecimentos, São Luís – 2016.

| Estabelecimentos    | Positivo    | Negativo    | Total |
|---------------------|-------------|-------------|-------|
| <b>Restaurante</b>  | 10 (47,61%) | 11 (52,39%) | 21    |
| <b>Lanchonete</b>   | 01 (20%)    | 04 (80%)    | 05    |
| <b>Panificadora</b> | 00          | 01 (100%)   | 01    |
| <b>Frigorífico</b>  | 00          | 01 (100%)   | 01    |
| <b>Galeria</b>      | 00          | 01 (100%)   | 01    |
| <b>Pousada</b>      | 00          | 01 (100%)   | 01    |

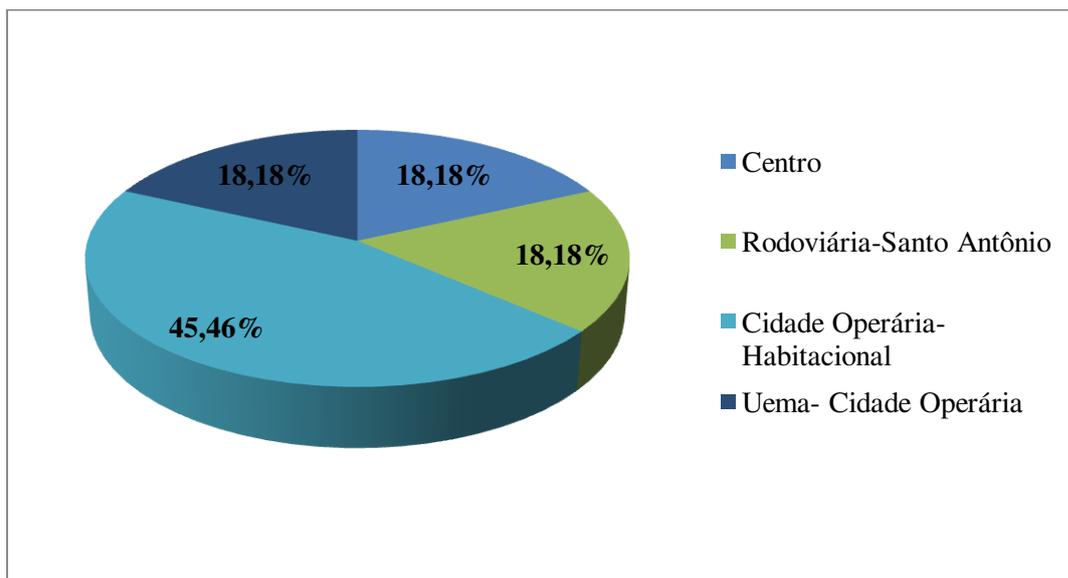
Pode-se observar que houve um alto número de contaminação nos estabelecimentos, e estes foram em sua, grande maioria, restaurantes. Este dado desperta para a problemática da contaminação de alimentos por *Pseudomonas*. É importante lembrar que em alimentos de origem animal, o gênero *Pseudomonas*, está associado à deterioração e a produção de toxinas (NYCHAS et al 2007). Os estabelecimentos devem estar atentos às boas práticas de fabricação, pois essa bactéria é formadora de biofilmes, deve-se fazer a higienização dos estabelecimentos através de métodos físicos e químicos utilizando-se antimicrobianos. É importante lembrar que a água que entra em contato com os alimentos deve possuir o mesmo padrão microbiológico e de potabilidade para consumo humano (BALBANI E BUTUGAN, 2001), a água desses estabelecimentos deve passar por uma análise para avaliar as características microbiológicas, através do teste Contagem Padrão de Bactérias Heterotróficas, sendo que a contagem não deve exceder a 500 UFCs por mL.

Dos seis bairros e oito pontos visitados, a Cidade Operária – habitacional com 15 (50%) do total das coletas realizadas, apresentou 05 amostras (33,33%) positivas, todas coletadas em restaurantes e sendo 03 da CAEMA. Na Uema – Cidade Operária, foram coletadas 03 amostras que representam 10% do total, sendo 02 da CAEMA(66,66%) e contaminadas, 01 colhida em restaurante (50%) e outra em lanchonete (50%).

Da visita ao Renascença colheu-se uma mostra não contaminada, a única coleta representa 3,33% do total das coletas. Na Rodoviária, Santo Antônio, colheram-

se 02 amostras que representam 6,66% do total das coletas, sendo ambas contaminadas e encontradas em restaurantes. Da passagem pelo bairro Vinhais colheu-se uma única amostra, que representa 3,33% do total. No bairro Diamante obteve-se 01 amostra não contaminada que representa 3,33% do total. No Centro ludovicense foram coletadas 03 amostras, 10% do total da coleta, destas, 02 positivas e ambas advindas de restaurantes e da CAEMA. Em desfecho, no bairro do Habitacional Santo Antônio foram coletadas 04 amostras que representam 13,33% do total coletado, e no referido bairro não se encontrou contaminações. Na figura 03 estão demonstradas as porcentagens de amostras positivas por bairro. Das amostras positivas de água de poço, 02 eram do bairro Cidade Operária e 02 da Rodoviária.

**Figura 03.** Porcentagem de coletas positivas por bairro



Na Tabela 04 estão apresentados os valores do número mais provável de *P. aeruginosa*. das 11 amostras positivas verificou-se a variação foi de 1,1 a 16,1 NMP/mL.

**Tabela 04.** Resultado do número mais provável de *P. aeruginosa* 11 amostras positivas das amostras positivas.

| <b>Amostra</b> | <b>NMP/100 ML</b> | <b>Origem</b> | <b>Estabelecimento</b> | <b>Bairro</b>      |
|----------------|-------------------|---------------|------------------------|--------------------|
| <b>1</b>       | 2,2 NMP/100mL     | Caema         | Restaurante            | Cidade<br>Operária |
| <b>2</b>       | 1,1 NMP/100mL     | Caema         | Lanchonete             | Uema               |
| <b>3</b>       | 9,2 NMP/100mL     | Caema         | Restaurante            | Cidade<br>Operária |
| <b>4</b>       | 3,6 NMP/100mL     | SAC           | Restaurante            | Cidade<br>Operária |
| <b>5</b>       | 1,1 NMP/100mL     | SAC           | Restaurante            | Cidade<br>Operária |
| <b>6</b>       | 3,6 NMP/100mL     | Caema         | Restaurante            | Centro             |
| <b>7</b>       | 16,1<br>NMP/100mL | Caema         | Restaurante            | Centro             |
| <b>8</b>       | 16,1<br>NMP/100mL | SAC           | Restaurante            | Rodoviária         |
| <b>9</b>       | 16,1<br>NMP/100mL | SAC           | Restaurante            | Rodoviária         |
| <b>10</b>      | 16,1<br>NMP/100mL | Caema         | Restaurante            | Cidade<br>Operária |
| <b>11</b>      | 6,9 NMP/100mL     | Caema         | Restaurante            | Uema               |

Das 11 *Pseudomonas aeruginosa* isoladas, 10 foram submetidas ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. Na tabela 05 estão apresentados os resultados referentes ao perfil de resistências.

**Tabela 05.** Perfil de resistência das amostras positivas a antimicrobianos, São Luís-2016

| <b>Antimicrobianos</b>             | <b>Resistentes</b> | <b>%</b> |
|------------------------------------|--------------------|----------|
| <b>Amoxicilina/Ac. Clavulanico</b> | 10                 | 100      |
| <b>Cefalexina</b>                  | 10                 | 100      |
| <b>Cefoxitina</b>                  | 07                 | 70       |
| <b>Imipinem</b>                    | 00                 | 00       |
| <b>Enrofloxacina</b>               | 03                 | 30       |
| <b>Ampicilina</b>                  | 10                 | 100      |
| <b>Sulfazotrim</b>                 | 09                 | 90       |
| <b>Neomicina</b>                   | 08                 | 80       |
| <b>Tetraciclina</b>                | 10                 | 10       |
| <b>Polimixina B</b>                | 00                 | 00       |

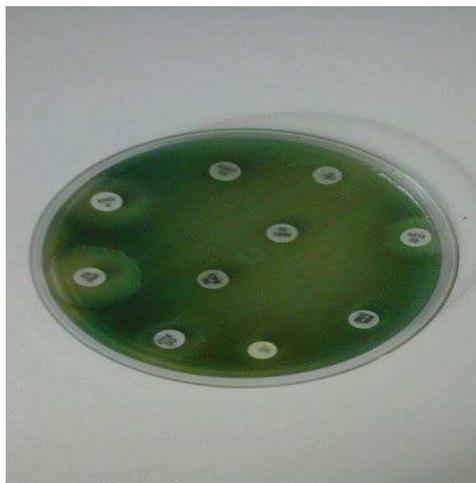
No que se refere ao estudo da resistência aos antimicrobianos nas cepas isoladas, verificou-se índices de resistência de 90 a 100% para Amoxicilina/Ac. Clavulanico, Cefalexina, Ampicilina, Tetraciclina e Sulfazotrim. Adesoji, Ogunjobi e Olatoye (2015), avaliando a resistência aos antimicrobianos de *Pseudomonas* isoladas de água do sistema de distribuição na Nigéria, verificaram a resistência de 81,8% para Amoxicilina/Ac. Clavulanico, sulfametazol 77,3% e de 59,1 para tetraciclina. Embora, o índice de resistência tenha sido menor do que o presente estudo observa-se nos dois estudos a alta resistência para Amoxicilina/Ac. Clavulanico. Ao analisar os diferentes índices de resistência, deve-se ressaltar que os micro-organismos avaliados são de diferentes regiões geográficas. Independente dos estudos terem sido realizados em diferentes regiões, estes demonstram a importância da alta resistência para os antimicrobianos em bactérias de origem hídrica e principalmente por ser água destinada ao consumo humano.

No Brasil, a grande maioria dos estudos sobre resistência aos antimicrobianos em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, são de estirpes isoladas de amostras clínicas, tanto em medicina humana como veterinária.

Em amostras de águas, os estudos tem sido realizados em *P. aeruginosa* isoladas de água mineral, ambientes e águas residuais de estabelecimentos de saúde (PERESI et al., 2011; ALCÂNTARA et al., 2014; PEDROSA et al., 2014). E da mesma forma, as origens da água, os métodos de avaliação podem influenciar no diagnóstico, bem como apresentar diferentes perfis de resistência.

O presente estudo, que aborda estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos, demonstra sua importância no que se refere à qualidade da água e na vigilância de patógenos de veiculação hídrica que podem carrear a resistência aos antimicrobianos e serem veiculados por alimentos. Na figura 05 está demonstrado o resultado dos antibiogramas.

**Figuras 05.** Resultados dos Antibiogramas.



## 6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados na presente pesquisa pode-se concluir que a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* está presente na água de estabelecimentos que produzem e/ou comercializam alimentos, sendo um grande risco de contaminação para estes. Logo, este estudo vem reforçar a necessidade da adoção de boas práticas de fabricação nos estabelecimentos, a fim de se evitar a contaminação dos alimentos com a referida bactéria. Os estabelecimentos devem estar atentos à higienização dos depósitos de água e a determinação de *pseudomonas* na água deve ser feita periodicamente. Foi avaliada uma alta resistência das cepas ao antimicrobianos, demonstrando a sua importância em saúde pública.

## REFERÊNCIAS

ADESOJI, A. T.; OGUNJOBI, A. A.; AND OLATOYE I. O. Molecular characterization of selected multidrug resistant *Pseudomonas* from water distribution systems in southwestern Nigeria, **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, vol. 14, article 39, 2015.

ALCÂNTARA S.S. J.; BARAÚNA L, SANTOS G.A. L.; PAGUNG, E.; CARVALHO P. L.; FREIRE S. C. V.; MORAES R.; SANTOS R. P.; Perfil de resistência de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de água superficial e efluente hospitalar: teste de sensibilidade a antimicrobianos e detecção de metalo- $\beta$ -lactamase. **Rev. Bras. Pesq. Saúde**, Vitória, 16(4): 97-104, out-dez, 2014.

AMARAL F.M.M; RIBEIRO M.N.S; BARBOSA J.M; REIS A.S; Nascimento F.R.F, Macedo RO. Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Rev Bras Farmacogn** 16(Supl.): 696-720, 2006.

AMARAL, L.A.; NADER F.A.; ROSSI J. O.D.; FERREIRA, L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**; 37(4): 510-514, 2003.

ANDRADE , P. J. S.; NASCIMENTO, S.S.; MESSIAS, D.; Distrofias ungueais no ambiente de trabalho: uma breve abordagem. **Rev Bras Med Trab.**2015;13(1):17-22.

ANJOS L. C.; SANTOS P. F. **Avaliação microbiológica de carne moída comercializada em açougues de Brasília**, DF-doi: 10.5102/ucs. v8i1. 1068. Universitas: Ciências da Saúde, v. 8, n. 1, p. 33-43, 2010.

ARAÚJO, M. A. CANTISANI, M. L.; ESPOSTO, M. E; SILVA, W. C. P.; RODRIGUES, P. E. C., RODRIGUES, P. D.;& dos LAZÁRO, S, N. I. "Resistência antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* isolados de pescado e de cortes e de miúdos de frango." **Ciênc. Tecnol. Aliment** 29.1 (2009): 114-119.

BALBANI, A. P. S. & BUTUGAN, O. 2001. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, 23(4): 320-328

BALBANI, A.P.S e BUTUGAN, O. **Contaminação biológica de alimentos**. *Pediatria*, 23(4): 320-328, 2001.

BARCAT, J. A. **Biofilms**. *MEDICINA*, v. 65, n. 4, p.369-372. Buenos Aires, 2005.

BEUCHAT LR. **Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables**. *Microbes and Infection*, 2002; 4: 413–423.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 25, 16 set. 2004. Seção 1

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União** n. 239, Seção 1, p.39, 14 dez 2011.

BRUCKNER, S.; ALBRETCH, A.; PETERSEN, B.; KREYENSCHMIDT, J. Characterization and comparison of Spoilage Processes in Fresh Pork and Poultry. **Journal of Food Quality**, Vol. 35 (nº 5), pp. 372 – 382, 2012.

CAMPOS, M.A.; OLIVEIRA; J.C.; VENDRAMINI, A. L. A. **História da ciência e tecnologia dos alimentos no Brasil no pós-Segunda Guerra até os dias atuais: desenvolvimento e estruturação do alimento**. In: CONGRESSO SCIENTIARUM HISTORIA, 4. Anais... Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 19 a 21 de outubro de 2011. p. 492-498. Disponível em: <<http://www.hcte.ufrj.br/downloads/sh/sh4/trabalhos/Maria%20Aparecida.pdf>> Acesso em: 21 set de 2016.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia dos alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010. 84 p.

CODEX ALIMENTARIUS. CAC/RCP 1-1996, A. 4, 2003a. **Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene**. Disponível em: Acesso em 08 set. 2006.

CORREA, C.M.C.; TIBANA, A.; GONTIJO-FILHO, P.P. Avaliação de vegetais como fonte de infecção por *Pseudomonas aeruginosa* para pacientes hospitalizados: 1. nível de contaminação de alimentos servidos aos pacientes. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.2, n.3, p.238-242, 1990.

D'AGUILA, et al. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Cadernos de Saúde Pública**, jul./set. 2000, vol.16, no.3, p.791-798.

DIAS, M.F.F. **Qualidade Microbiológica de águas minerais em garrafas individuais comercializadas em Araraquara–SP**. 2008. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos e Nutrição). Área de Ciências dos Alimentos, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Câmpus de Araraquara, 2008

ESTEPA, V.; BEZARESB, R; TORRES C. **Genetic Lineages and Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas* spp**. Isolates Recovered from Food Samples, Foodborne Pathogens and Disease Volume 12, Number 6, 2015.farmacêutica. **Revista FÁrmacos & Medicamentos**, v.2, n. 7, p. 19 -24. Nov-Dez 2000. Disponível em: <<http://www.aguaseguas.ufjf.br>>. Acesso em: 17 setembro de 2016

FEITOSA, T.; BRUNO, L.; BORGES, M.F. **Segurança microbiológica dos alimentos**. Ferramentas da ciência e tecnologia para a segurança dos alimentos. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical, p. 21-40, 2008.

FIGUEIREDO E.A.P.; RAMOS, H.; MACIEL, M.A.V.; VILAR, M.C.M.; LOUREIRO N.G.; PEREIRA, R.G. *Pseudomonas Aeruginosa*: frequência de resistência a múltiplos fármacos e resistência cruzada entre antimicrobianos no Recife/PE. **Rev Bras Ter Intensiva**. 2007;19(4): 421-7.

FRAZIER , W.C.; WESTHOFF D.C. **Food Microbiology McGraw Hill**, New York,1978

FREITAS, M.B. Identificando as práticas de saúde ambiental nos municípios do Estado do Rio de Janeiro: subsídios para compreender a formação profissional em vigilância

ambiental em saúde. **Relatório Parcial do Programa de Aperfeiçoamento para as Escolas Técnicas/EPSJV/Fiocruz**, 2003.

FREITAS, V. P. S. Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas. **Revista Instituto Adolfo Lutz, Campinas**, v.61, n.1, p. 51-58, 2002.

FURTINE, A. **Utilização de Appcc na indústria de Alimentos**. Lavras, Minas Gerais MG, Universidade Federal de Lavras: Artigo, Brasil SCIELO 2006. Acesso 23 de agosto de 2016

GALHARDI, R. **“Financing Training: Innovative Approaches in Latin America. Skills Development Department**. ILO, Geneva, 2002

GALVÃO J. A. C.; MONTEIRO, MÁRIO A. P. Análise de contratos de concessão para a prestação de serviços de água e esgoto no Brasil. **Eng. Sanit. Ambiental**, Vol. II, nº 4, out/dez 2006

GRÄF, T.; FUENTEFRIA, D.B; CORÇÃO, G. Ocorrência de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes produtoras de metallo- $\beta$ -lactamase bla<sub>SPM-1</sub> em amostras clínicas. **Rev Soc Bras Med Trop**; 41:306-308, 2008.

GRAM, L.; RAVN, L.; RASCH, M.; J. B., BRUHN, A. B. **Christensen, and M. Givskov**. 2002. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 78:79-97.

GUERRA, N.M.M.; Otenio, M.H.; Silva, M.E.Z.; Guilhermetti, M.; Nakamura, C.V.; Nakamura, T.U.; Dias Filho, B.P. **Ocorrência de Pseudomonas aeruginosa em água potável**. *Acta Sci. Biol. Sci.* 2006; 28(1): 13-18.

LECLERC, H.; MOREAU, A. Microbiological safety of natural mineral water. **FEMS Microbiology Reviews**. Reino Unido, v. 26, n. 2, p. 207-222, 2002. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00611.x>> Acesso em 15 de julho de 2016.

LECLERC, H.; MOREAU, A. **Microbiological safety of natural mineral water**. *FEMS Microbiology Reviews* v. 26, p. 208 – 222. 2002.

LEGNANI, P.; LEONI, E.; RAPUANO, S.; TURIN, D.; VALENTI, C. **Survival and growth of *Pseudomonas aeruginosa* in natural mineral water: a 5-year study.** *Int. J. Food Microbiol.*, 53, 153-158, 1999

MACÊDO, J. A. **Águas & Águas.** 2. ed. Atual e rev São Paulo, 2004.

MARINS, B. R (Org.). **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas.** Rio de Janeiro: EPSJV, 2014.

MAZIERO, M.T.; VIANA, C.; BERSOT, L. dos S. Microorganismos psicrotróficos lipolíticos em produtos lácteos durante o prazo comercial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.65, n.372, p.30-35, 2010.

MENA, KD; GERBA, CP. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.** 201, 71–115, 2009.

MENEZES, E.A; SILVEIRA, A .S; CUNHA, F.A; CAVALCANTE, M.S; TIXEIRA, A.B; OLIVEIRA, I.R.N& SALVIANO, M.N.C. *Pseudomonas* resistentes a antimicrobianos isolados no Complexo Hospitalar da Universidade federal do Ceará. **Rev. Bras. Anal. Clin.** Vol. 35 (4).p.177-180, 2003.

MORAES, D.S.L.;JORDÃO,B.Q. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos 44 sobre a saúde humana. **Rev. Saúde Pública**, v.36, n. 3, p. 370-374. Jun 2002. Disponível em:  
<[www.ufv.br/dns/NUT392/degrada%E7%E3o%20dos%20recursos%20hidricos.pdf](http://www.ufv.br/dns/NUT392/degrada%E7%E3o%20dos%20recursos%20hidricos.pdf)>  
Acesso em: 15 agosto de 2016.

NEVES, P. R.; MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N. **Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: an endemic problem in Brazil.** *J. Bras. Patol. Med. Lab.* v. 47 n. 4, p.409-420, 2011.

NYCHAS, G.; MARSHALL, D.; SOFOS, J. Meat, Poultry, and Seafood, p 105-140. *In* Doyle M, Beuchat L (ed), **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition.** ASM Press, Washington, DC. doi: 10.1128/9781555815912.ch6, 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. Trabalhando juntos pela saúde: relatório mundial de saúde 2006. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2007. (Série B, Textos Básicos de Saúde).

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE LA SALUD. EDUCACIÓN CONTÍNUA – **Guia para la organización de programas de educación continua para personal de salud**. Washington: División de Recursos Humanos e Investigación; 1979. p.

PARK, C. E.; WARBURTON, D.; LAFFEY, P. J. A collaborative study on the detection of staphylococcal enterotoxins in foods with an enzyme immunoassay kit (Tecra). **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 4

PASSO, E. C.; ALMEIDA C.S.; ROSA J.P.; ROZMAN L.M.; MELLO A.R.P, SOUZA, C.V. Surto de toxinfecção alimentar em funcionários de uma empreiteira da construção civil no município de Cubatão, São Paulo/Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**.;67(3):237-40

PEDROSA, A.; BRANDÃO, M. L. L; MEDEIROS, V.M. ; ROSAS, C. O; BRICIO, S. M. L; A. E. C. C ALMEIDA. Pesquisa de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. **Rev. Ambient. Água**, Jun 2014, vol.9, no.2, p.313-324.

PERESI, J. T. M. CALMEIDA, I. A. Z. ; I. S. C TEIXEIRA; SILVA, S.I.L. ; ALVES, E.C.; MARQUES, D. F.; RIBEIRO, A.K. "*Pseudomonas aeruginosa*: the occurrence and the antimicrobial susceptibility of bacteria isolates from treated water samples utilized for preparing dialysis solution." **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso) 70.4 (2011): 542-547.

PIRES, E.J.V.C.; SILVA J.V.V, LOPES A.C.S, VERAS D.L.; LEITE L.E, MACIEL, M.A.V. Epidemiologic analysis of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from an university hospital. **Rev Bras Ter Intensiva**; 21:384-390, 2009.

PISANI, B.; SIMÕES, M.; PRANDI, M.A.G.; MARTINI, M.H.; CHIARINI, P.F.T.; MARTINEZ, E.Z. "Eficácia de meios ágar M-PA-C e ágar Cetrimide no isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de água mineral." **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impresso) 66.1 : 35-39, 2007.

POLLACK, M. *P.aeruginosa*. In: Mandell Dab, editor. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5. New York: Chuchill Livingstone; 2000.

SANT'ANA, A. et al. **Qualidade microbiológica de águas minerais**. Ciênc. Tecnol. Alim., v.23, suppl, p.190-194, 2003.

SILVA C.B.; ALMEIDA F.Q.A. Qualidade na produção de refeições de uma unidade de alimentação e nutrição (UAN). **Rev. Simbio-logias**, 2011, 4 (6).

SILVA, A. F.; VIEIRA, R. C. P. A.; CHICOUREL, E. L.; Levantamento dos casos de intoxicação alimentar na região de Juiz de Fora-MG, no período 2005/2006: estudo de casos. **O mundo da Saúde**, n. 32, v. 3, 2008.

SILVA, M. E. Z. et al. **Comparison of bacteriological quality of tap water an bottled mineral water**. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 211, p. 504 – 509, 2008.

SILVA, M. E. Z. et al. Comparison of bacteriological quality of tap water an bottled mineral water. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 211, p. 504 – 509, 2008.

TAUXE,RV. **Emerging foodborne pathogens**. *Int J Food Microbiol*.78:31–41. PubMed DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00232-5, 2002.

TODAR, K.; **Pseudomonas aeruginosa**. Department of Bacteriology, University of Wisconsin—Madison, 2004. Disponível em <<http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>> Acesso em 29 de agosto de 2016.

TORTORA, G, J; FUNKE, B. R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 8ª edição Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 772p.

VISCIANO, P.; SCHIRONE, M.; TOFALO, R.; & SUZZI, G. **Biogenic amines in raw and processed sea food**. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1–10, 2012.

WANG, S.; DUAN, H.; ZHANG, W. LI, J.W. AnalysisofbacterialfoodbornediseaseoutbreaksinChinabetween 1994 and 2005. *Immunol Med Microbiol* 51 (2007) Disponível em: <8–13.[ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/doc/ifn\\_quadro.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/doc/ifn_quadro.pdf)> Acesso em 13 de setembro de 2016

WEINGOLD S.E.; GUZEWICH J.J.; FUDALA J.K. **Use of foodborne disease data for HACCP risk assessment**. *J Food Prot* 1994; 57:820–30.

WEINGOLD, S.E.; GUZEWICH, J.J.; and FUDALA, J.K. **Use of foodborne disease data for HACCP risk assessment.** J. Food Prot. 57, 820– 30, 1994.

WHO, W. **Epidemiological Record**, n.27, July 5, 1996

ZAVASCKI, A.P. **Fatores de risco para aquisição de Pseudomonas aeruginosa resistente aimipenem em pacientes hospitalizados.** [Dissertação] [Porto Alegre]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2003. 71f.

## ANEXO

**ANEXO A** – Tabela dos índices de NMP e limites de 95% de confiança para várias combinações de resultados positivos e negativos quando dez alíquotas de 10mL são usadas.

| Nº de tubos positivos | Limites de confiança |          |          |
|-----------------------|----------------------|----------|----------|
|                       | NMP/100mL            | Inferior | Superior |
| 0                     | <1,1                 | 0        | 3,0      |
| 1                     | 1,1                  | 0,03     | 5,9      |
| 2                     | 2,2                  | 0,26     | 8,1      |
| 3                     | 3,6                  | 0,69     | 10,6     |
| 4                     | 5,1                  | 1,3      | 13,4     |
| 5                     | 6,9                  | 2,1      | 16,8     |
| 6                     | 9,2                  | 3,1      | 21,1     |
| 7                     | 12,0                 | 4,3      | 27,1     |
| 8                     | 16,1                 | 5,9      | 36,8     |
| 9                     | 23,0                 | 8,1      | 59,8     |
| 10                    | >23,0                | 13,5     | Infinito |

Fonte: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1998