



**Disciplina de Microbiologia**

**Ensino Remoto**

**Curso de Nutrição - Integral**

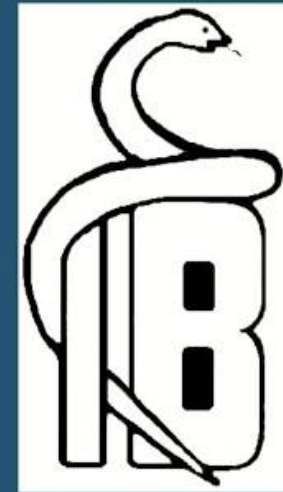
**Professor Ministrante:**

*Renato Geraldo da Silva Filho*

[renato.geraldo.silva@unirio.br](mailto:renato.geraldo.silva@unirio.br)

**Aula: Microrganismos de Importância Higiênico-Sanitária**

**U N I R I O**



**Instituto Biomédico**

## FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS



Microbiota do Frango

Pode ter na Microbiota Intestinal **salmonelas**



A  
b  
a  
t  
e  
d  
o  
u  
r  
o



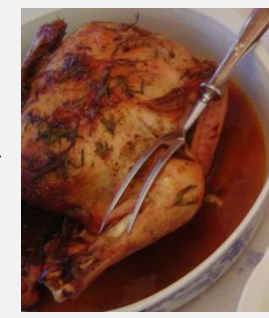
Microbiota da Carcaça de Frango Resfriada

Incorporou a Microbiota das Superfícies do Abatedouro

Parte da Microbiota foi "Estimulada" pela Cadeia de Frio



C  
o  
n  
s  
u  
m  
i  
d  
o  
r



Microbiota do Frango Coccionado

Incorporou a Microbiota dos Condimentos

Microbiota **Sobrevivente** ou Seleccionada pela Cocção



C  
o  
n  
s  
u  
m  
o

## FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS



Alterações da Microbiota



Alteração da Qualidade

Deterioração Microbiana

Baixa Qualidade Microbiológica

Doenças Transmitidas por Alimentos

Análise Sensorial

Análise Físico-Química

Análise Microbiológica

## MICROORGANISMOS INDICADORES

### Conceito:

são grupos, famílias, gêneros ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre sua qualidade microbiológica, a contaminação fecal ou a possível presença de patógenos específicos de DTAs.

### Utilização:

→ Avaliação da **Qualidade Microbiológica** de Alimentos;

→ Avaliação do **Risco de Ocorrência** de DTAs;

Avaliação das Condições **Higiênico-Sanitárias**

### Aplicação Prática:



Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas

Resultado: **AUMENTO**

~~Contagem de Coliformes~~

**Contagem de *Escherichia coli***

Resultado: **AUMENTO**

## MICROORGANISMOS INDICADORES



Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Aplicação Prática:

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilos

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Higiênica: **Baixa**

Sanitária: **Sem comentários**

Está Deteriorado?  
Não sei. Que tal uma **análise sensorial?**

~~Contagem de Coliformes~~

**Contagem de *Escherichia coli***

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Sanitária: **Baixa**

Risco de DTA: **Aumentou**

Causará DTA: **Sem comentários**

~~Coliformes~~ *E.coli* indicador de contaminação fecal, **mas não causa doença.**

Mas se existia também um enteropatógeno junto com a *E. coli*? Hum ... **Então o risco de DTA aumentou!**

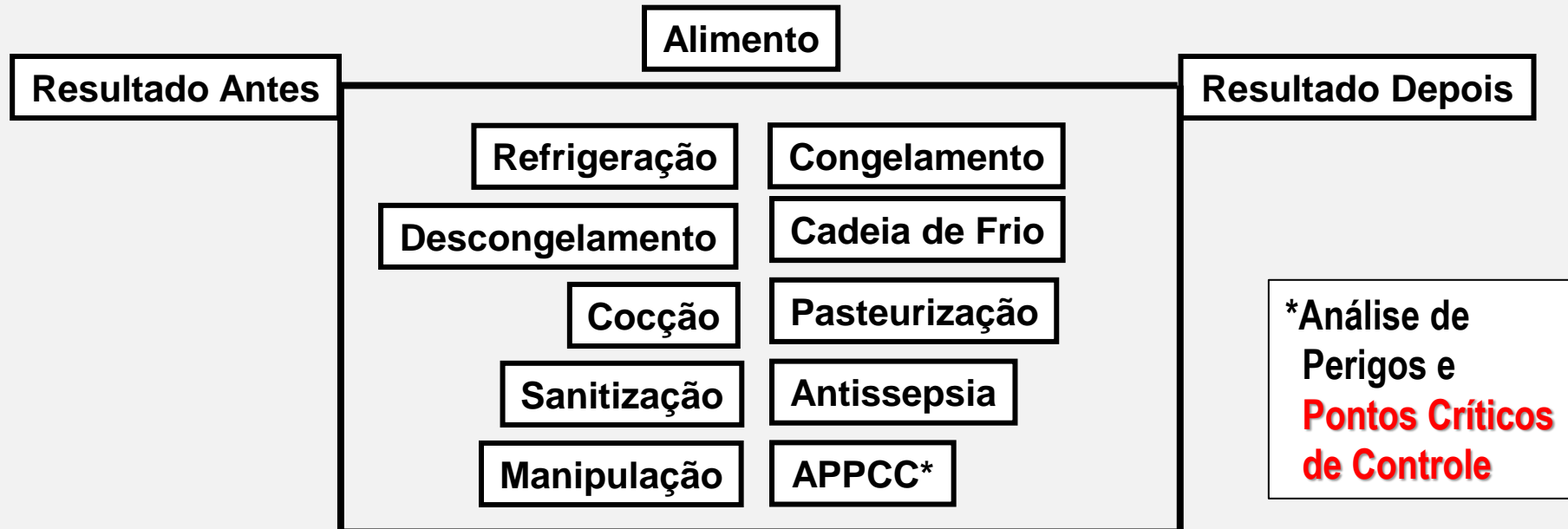
## MICROORGANISMOS INDICADORES

Melhor Ferramenta de Avaliação



Visão Ampliada do Uso:

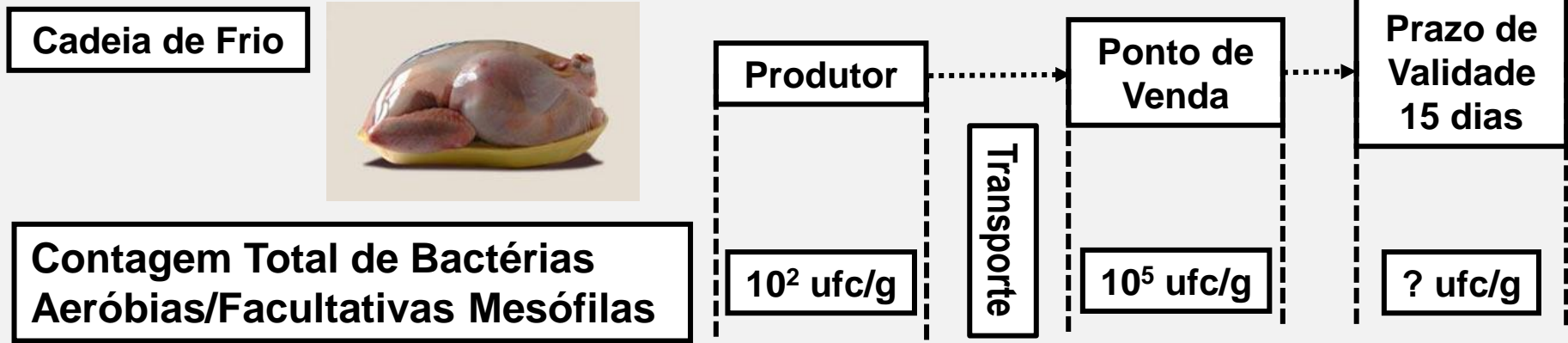
→ Avaliação da Eficácia de Processos / Procedimentos que Influenciam a Qualidade Microbiológica de Alimentos;



Esta comparação de resultados Antes e Depois permite avaliar se o Procedimento feito com o alimento **melhora/piora/mantem** a sua qualidade microbiológica!!!

**Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!!??**

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??



A Cadeia de Frio protegeria o alimento da deterioração?

Possivelmente Não!!!

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes



Depois

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas

$10^5$  ufc/g

$10^3$  ufc/g

A Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio do alface reduziu a “carga bacteriana em 2 log, mostrando o seu nível de eficiência.

Esse alface é seguro para o consumo?

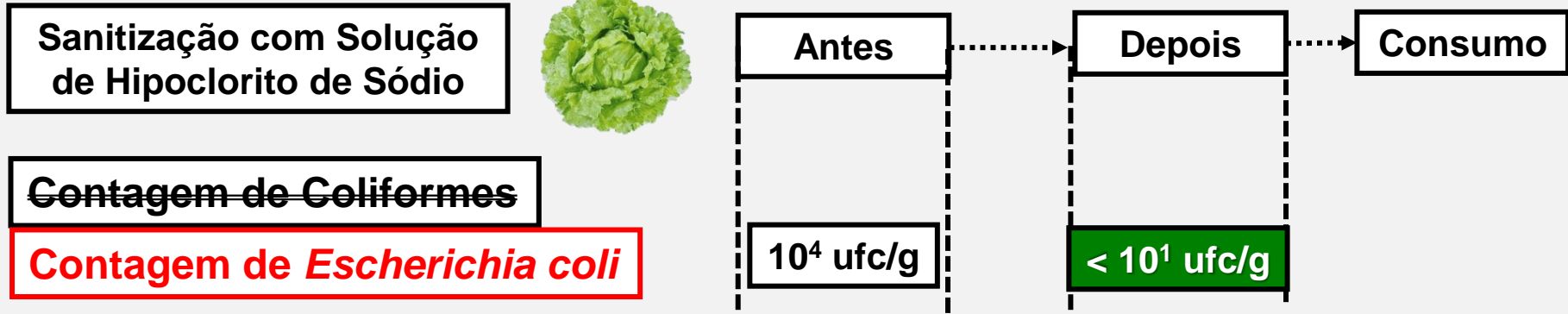
“Muito Pouco” posso afirmar!

A sanitização atuaria no controle de um eventual enteropatógeno (ex.: *Salmonella*) presente no alface?

Não seria melhor substituir um Microrganismo Indicador da Qualidade “Higiênica” por um Indicador da Qualidade “Sanitária” desse alimento?



Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??



A sanitização atuaria no controle de um eventual enteropatógeno (ex.: *Salmonella*) presente no alface?

Possivelmente SIM, pois *E. coli* ≈ enteropatógenos (*Salmonella*; *Shigella*; ...)

Bastonete Gram Negativo  
 Família Enterobacteriaceae

Bastonete Gram Negativo  
 Família Enterobacteriaceae

Seria um bom representante do grupo dos enteropatógenos ...

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Contagem de *Escherichia coli*

~~Contagem de Coliformes~~

Antes

10<sup>4</sup> ufc/g

Depois

10<sup>3</sup> ufc/g

A Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio do alface reduziu os “coliformes” em 1 log, mostrando o seu nível de eficiência.

Esse alface não é seguro para o consumo?

Causará DTA nos comensais?

MICROORGANISMOS INDICADORES

Não CAUSAM DTAs

Avaliação do Risco de Ocorrência de DTAs

Quem causa DTA?

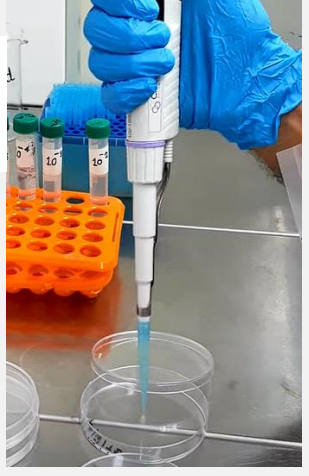
Patógenos Específicos

## TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### → QUANTITATIVAS (Contagem de ...)



1 mL da Amostra

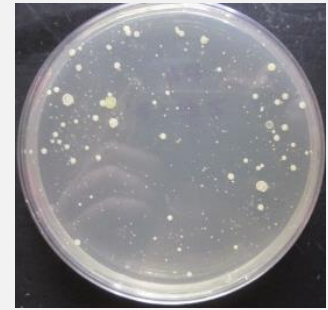


Adicionar o Meio de Cultura Estéril

Incubar a 35°C por 48 h



Contar as Colônias



Resultado: 223 ufc/mL

Unidade Formadora de Colônia



## TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### → Exemplos de Análises Quantitativas



**Enterobacteriaceae**

**Agar VRBG**  
(bile; vermelho;  
violeta; glicose)



**Staphylococcus aureus**

**Ágar Baird-Parker**  
(gema de ovo;  
telurito; glicina)



**Bacillus cereus**

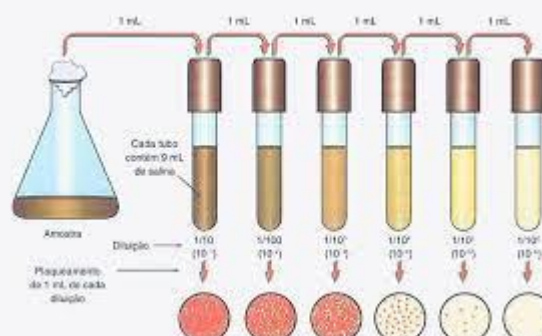
**Ágar MYP**  
(manitol; gema de  
ovo; polimixina)



**Clostridium perfringens**

**Ágar TSC**  
(triptose; sulfito;  
cicloserina)

Contagem empregando  
diluição seriada da amostra:



## TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ QUALITATIVAS (Pesquisa de ...)

**Salmonella**

Enriquecimento Seletivo

Pré-Enriquecimento

25 g/mL da amostra

+



225 mL de Caldo Lactosado

Incubar 35°C / 18 h

Alíquotas

0,1 mL

1 mL



Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS) 10ml



Caldo Tetrionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn) 10ml

35°C

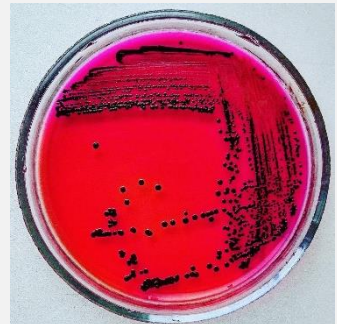
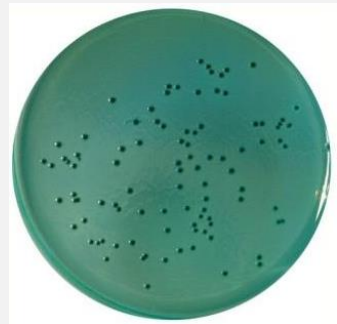
45,5°C

Incubar por 24 h

Repicar

Ágar Hektoen Entérico

Ágar XLD (xilose; lisina; desoxicolato)



Resultado: Presença 25 g/mL

## TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### → Exemplos de Análises Qualitativas

**Bactérias que determinam risco de hospitalização/morte aos doentes**

Resultado:

**Ausência**

**Presença**

• Pesquisa de *Salmonella*

25 g

*Salmonella* spp.

*Salmonella* Enteritidis

*Salmonella* Typhimurium

Carne de aves

• Pesquisa de *Cronobacter* spp.

10 g

- Fórmulas em pó para lactentes
- Fórmulas enterais para lactentes

• Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

1 g

➤ Alimentos pronto para consumo

25 g

➤ Alimentos pronto para consumo de lactentes

## TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

### → Exemplos de Análises Quantitativas

**Bactérias que se multiplicam no alimento e produzem um toxina.**



**Enterobacteriaceae**

**Agar VRBG**  
(bile; vermelho; violeta; glicose)



**Staphylococcus aureus**

**Ágar Baird-Parker**  
(gema de ovo; telurito; glicina)



**Bacillus cereus**

**Ágar MYP**  
(manitol; gema de ovo; polimixina)



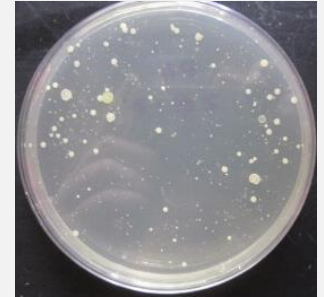
**Clostridium perfringens**

**Ágar TSC**  
(triptose; sulfito; cicloserina)

## MICROORGANISMOS INDICADORES

### Gerais de Contaminação (Carga Microbiana)

→ Contagem de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas  
(Contagem Padrão em Placa; CPP)



→ Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras  
(Contagem de Bolors e Leveduras; CBL)



→ Contagem de Total de Viáveis (CPP + CBL)

→ Contagem de Total de Esporulados Viáveis

→ Contagem de Total de Bactérias Lácticas Viáveis



**MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL****Premissas para Seleção de Microrganismos Indicadores:**

→ Podem ser: **Grupos**; **Famílias**; **Gêneros** ou **Espécies**;

**Grupos** → **Coliforme** (não são uma entidade taxonômica)

↳ “Definição do grupo” no Brasil é diferente da nos EUA, Inglaterra, ...

↳ Exportação de alimentos: Como fica a globalização?

↳ **Estão em desuso!!!**

**Famílias** → **Enterobacteriaceae**

**Gêneros** → *Enterococcus* sp.

**Espécies** → *Escherichia coli*

Regras de TAXONOMIA são “universais”!!!

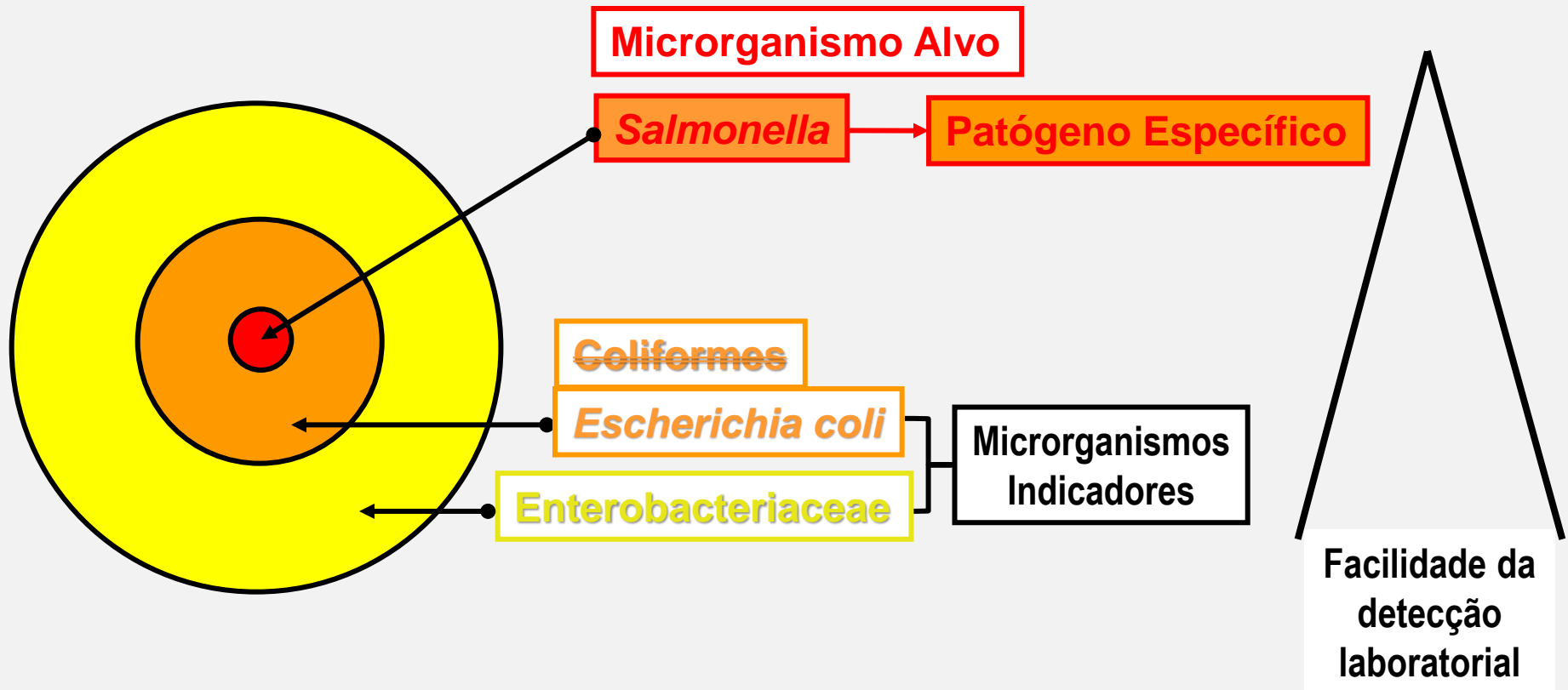
→ Devem ser encontrados na amostra com uma frequência igual ou superior ao microrganismo alvo;

→ Devem ser de fácil detecção laboratorial (métodos rápidos e de baixo custo);

## MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

### Premissas para Seleção de Microrganismos Indicadores:

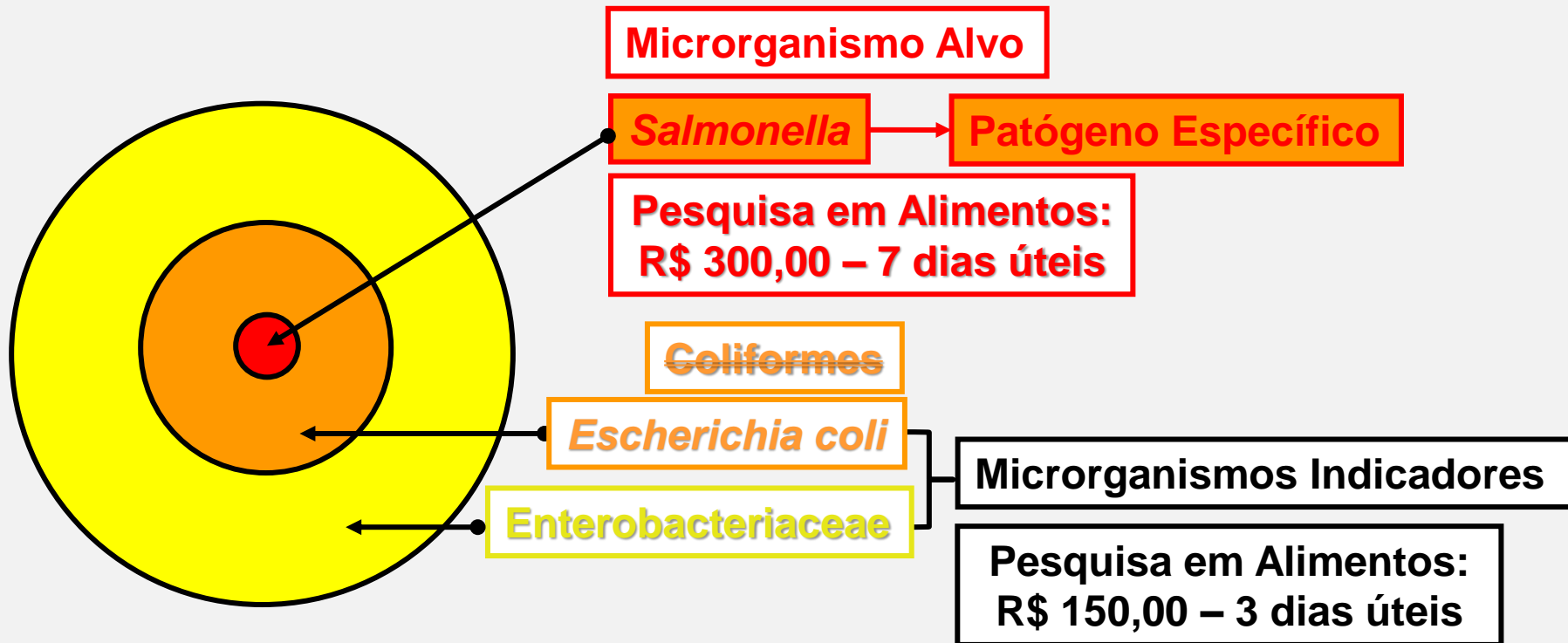
→ Devem ser encontrados na amostra com uma frequência igual ou superior ao microrganismo alvo;



## MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

### Premissas para Seleção de microrganismos Indicadores:

→ Devem ser de fácil detecção laboratorial (métodos rápidos e de baixo custo);



## PRINCIPAIS MICROORGANISMOS INDICADORES

## Microorganismos Indicadores de Contaminação Fecal:

→ **Grupo** dos Coliformes;

→ **Espécie** *Escherichia coli*;

→ **Família** Enterobacteriaceae;

→ **Gênero** *Enterococcus*;

→ **Grupo** dos Clostrídios Sulfito Redutores (CSR);

→ **Espécie** *Clostridium perfringens*;

Ainda Empregados  
no Controle de  
Qualidade de Águas

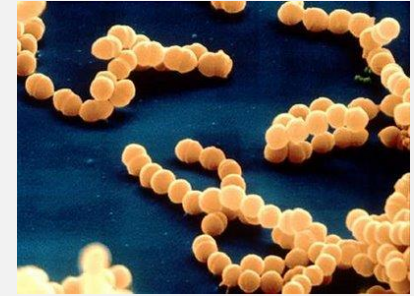
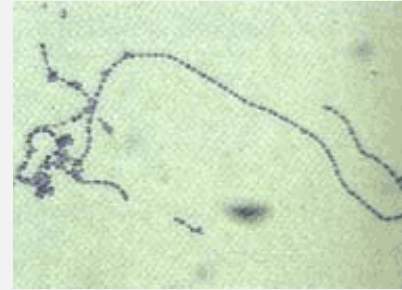
Controle de  
Qualidade de  
Águas Minerais

Porque tantos? Porque são tão importantes?

No passado, e mesmo “hoje” em dia nos países em desenvolvimento, a maioria das DTAs está relacionada a CONTAMINAÇÃO FECAL dos alimentos.

**MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL**

→ Gênero *Enterococcus*;



- são cocos Gram positivos agrupados em cadeia, encontrados no trato intestinal do homem e de outros animais.
- **são mais resistentes que os coliformes em ambientes aquáticos com adversidades como salinidade, cloração, ...**

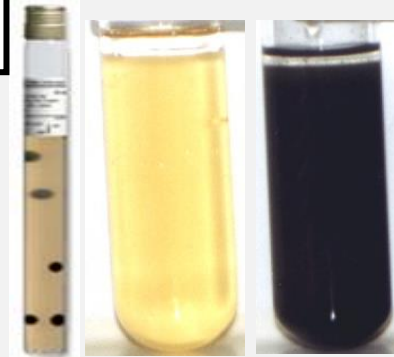
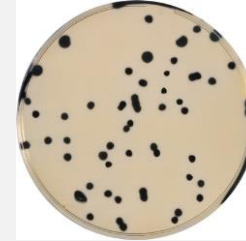
➤ Exigência das especificações de qualidade de Água do Mar;

➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

➤ Exigência das especificações de qualidade de Água de Piscina;

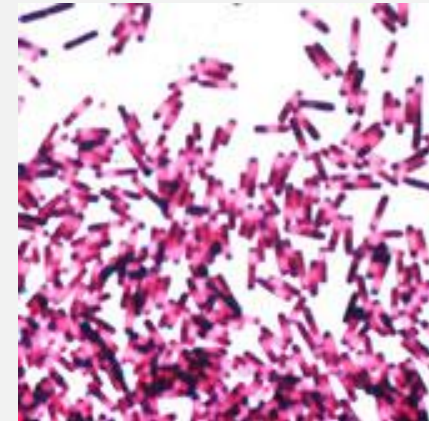
## MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

## → Clostrídios Sulfito Redutores (CSR);



- é um grupo de bactérias pertencentes ao gênero *Clostridium* que se caracteriza por reduzir o sulfito a sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) a  $46^{\circ}C$ .

- gênero *Clostridium*: bastonetes esporulados Gram positivo, encontrado na microbiota do intestino grosso do homem e animais.



➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

→ Indicadores de Contaminação Fecal

➤ Exigência das especificações de qualidade de Alimentos;

→ Não é um Microrganismo Indicador

→ ***Clostridium perfringens* – Patógeno Específico de DTAs**

**MICROORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA SANITÁRIA**

→ Contagem de Enterobacteriaceae;

→ Contagem de *Escherichia coli*;

**Microrganismos  
Indicadores**

→ **Pesquisa** de *Salmonella*;

→ **Pesquisa** de *Listeria monocytogenes*;

→ **Pesquisa** de *Cronobacter*;

→ Contagem de *Staphylococcus aureus*;

→ Contagem de *Bacillus cereus*;

→ Contagem de *Clostridium perfringens*;

**Microrganismos  
Relacionados a DTAs**

**Patógenos  
Específicos**

**Observação Importante:**

→ Dosagem de Enterotoxinas Estafilocócicas;

→ Pesquisa da Enterotoxina do *Clostridium perfringens*;

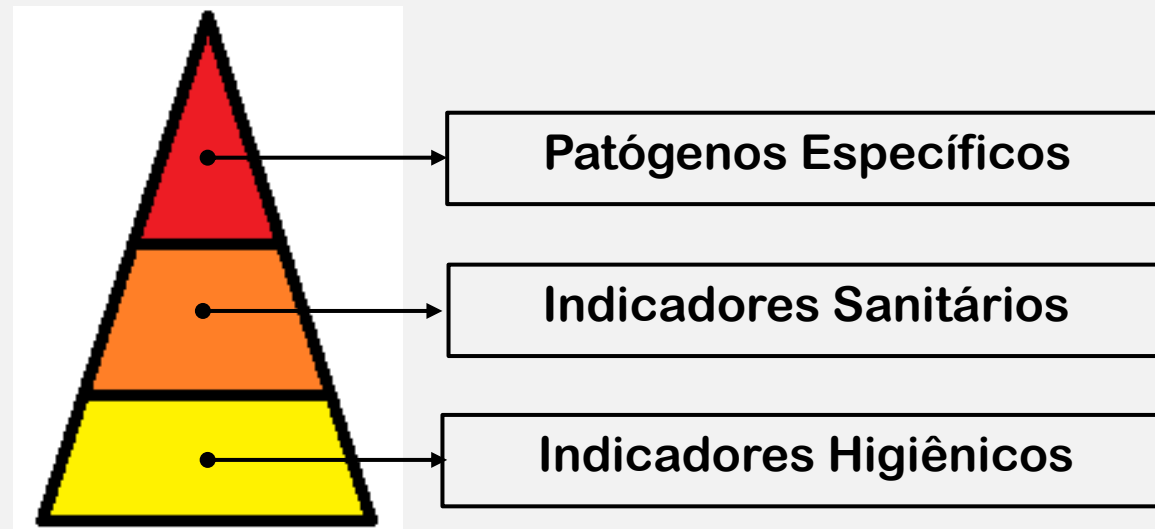
→ Pesquisa da Neurotoxina Botulínica;

**Deteção Exige  
Análises Específicas**





**Figura 1** – Categorias usuais de Microrganismos de Importância em alimentos.



**Quadro1** – Grau de Risco de Microrganismos em alimentos categorizados pela ICMSF.

CATEGORIA		DESCRIÇÃO
ICMSF - 1986	ICMSF - 2011	
<b>Ausência de risco direto</b> à saúde	<b>Utilidade</b>	Deteriorantes, Reduzem a " <i>shelf life</i> ", sem preocupação com a saúde
<b>Risco baixo</b> para a saúde, indireto	<b>Indicador, perigo baixo e indireto</b>	Estima as Boas Práticas de Higiene (GHP)
<b>Risco moderado</b> à saúde, <b>difusão limitada</b>	<b>Perigo Moderado</b>	Não ocorre risco de morte, duração curta, não deixa sequelas
<b>Risco moderado</b> à saúde, <b>difusão extensa</b>	<b>Perigo grave</b>	Incapacitante, mas geralmente não fatal; raras sequelas, duração moderada
<b>Risco severo e direto</b>	<b>Perigo severo</b>	para a população em geral ou em alimentos destinados a populações suscetíveis, podendo se letal ou causar sequelas crônicas ou enfermidade de longa duração

**Quadro 2** – Parâmetros Analíticos das categorias da ICMSF presentes na Resolução RDC 724 / Instrução Normativa 161 – 2022.

CATEGORIA ICMSF - 2011		Parâmetro Analítico*
<b>Utilidade</b>		Contagem de Aeróbios Mesófilos; Contagem de Bolores e Leveduras
<b>Indicador, perigo baixo e indireto</b>		Contagem de Enterobacteriaceae; Contagem de <i>Escherichia coli</i> genérica; Contagem de coliformes totais**
<b>Perigo Moderado</b>		Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva; Contagem de <i>Bacillus cereus</i> presuntivo; Contagem de <i>Clostridium perfringens</i> ; <b>Contagem de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>**</b>
<b>Perigo grave</b>		Pesquisa de <i>Salmonella</i> ; Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Perigo severo</b>	<b>População em geral</b>	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> O157:H7; <b>Pesquisa da neurotoxina botulínica***</b>
	<b>População suscetíveis</b>	Pesquisa de <i>Cronobacter</i> spp.; Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>