

Caderno de Microbiologia

Disciplina de Microbiologia

Nos “capítulos” listados abaixo são apresentados termos, conceitos e normas importantes em Microbiologia. Eles são de uso comum nas atividades da disciplina e seu conhecimento cumulativo é importante para o correto entendimento dos temas das aulas expositivas.

Capítulo	Título
1	Regras de Nomenclatura Binominal das Bactérias
2	Regras “Informais” de Designação de Bactérias em Textos Científicos
3	Descrição Morfotintorial das Bactérias
4	Glossário de Termos “Simples” de Microbiologia
5	Fatores que Potencializam a Bactéria a Causar DTA
6	Glossário de Termos e Conceitos Importantes de Microbiologia
7	Glossário de Termos e Conceitos Importantes em Surto de DTAs
8	Termos Médicos Comumente Usados em DTAs
9	Microrganismos Indicadores e Patógenos Específicos
10	Alimentos Estéreis, Comercialmente Estéreis e Ultrapasteurizados.
11	Termos e Conceitos Aplicados a Microrganismos Patogênicos.
12	Considerações Práticas sobre os Microrganismos de Importância Higiênico-Sanitária
13	Análises Microbiológicas de Alimentos – Visão da ANVISA
- - -	Histórico de Correções

Prezado Aluno,

Este material foi produzido pelo Professor Responsável e Monitores da Disciplina de Microbiologia para o Curso de Nutrição Integral da UNIRIO. Sua contribuição ou crítica sobre esse material é muito importante e beneficiará a todos, em particular nossos futuros alunos.

Capítulo 1

Regras de Nomenclatura Binominal das Bactérias

Regras Gerais

Em qualquer área da biologia as regras de escrita dos nomes científicos dos seres vivos são consideradas um requisito indispensável do conhecimento. Abaixo destacamos e exemplificamos as regras mínimas que você deve aprender na Microbiologia:

- Os nomes científicos **devem ser sempre escritos em *itálico*, caso não seja possível devem ser sublinhados**;
- São compostos por **dois nomes** (por isso nomenclatura binomial);
- O **primeiro nome se refere ao gênero** e o **segundo nome a espécie**;
- O nome do **gênero** deve ser escrito com a **primeira letra em maiúsculo**;
- O nome da **espécie** deve ser escrito com a **primeira letra em minúsculo**;

Exemplos:

- *Bacillus cereus* (uso do itálico; 1ª letra do gênero em maiúscula e 1ª letra da espécie em minúscula);
- Bacillus cereus (sublinhar no caso de manuscrito).

Regras de Abreviação

- **Abreviação do Nome do Gênero na Citação de uma Espécie:**
 - Para evitar a repetição excessiva dos nomes científicos em textos **o nome do gênero pode ser abreviado**;
 - A abreviação do nome do gênero **deve ser precedida** em alguma parte do texto **pelo nome do gênero por extenso**;

Foi isolada a partir do espécime clínico analisado uma amostra de *Staphylococcus aureus*. ...Foi realizado o Teste de Susceptibilidade a Antimicrobianos e a amostra de isolada de *S. aureus* se mostrou sensível aos antimicrobianos: ampicilina, amicacina ... Não foi detectada a produção de bacteriocinas pela amostra de *S. aureus* estudada.

➤ **Uso de “sp.” e “spp.” No Lugar do Nome da Espécie:**

- O nome da espécie pode ser substituído pelas abreviaturas “sp.” e “spp.”;
- A abreviatura "sp." (não usar itálico; não sublinhar; usar um ponto final indicando que é a abreviatura “espécie”);
- A abreviatura "sp." é usada quando o nome da espécie não pode ou não interessa ser explicitado, sendo mais importante a referência ao gênero;

Exemplo:

***Staphylococcus* sp.** é um importante gênero bacteriano, particularmente presente na microbiota da pele.....

- A abreviatura "spp." (não usar itálico; não sublinhar; usar um ponto final indicando que é a abreviatura “espécies”);
- A abreviatura "spp." é usada quando se faz uma referência a várias espécies;

Exemplo:

Na microbiota do trato respiratório superior podem ser encontrados prevalentemente ***Streptococcus* spp.**, ***Staphylococcus* spp.**, ***Neisseria* spp.**, ...

Nota:

- Um erro muito comum, e que não deve ser repetido, encontrado em textos da internet ou mesmo livros antigos é a abreviação do nome do gênero como por exemplo: ***Staph. aureus***, ***Strep. pyogenes***, ***Glostr. botulinum***.

(c) Gram positive cocci : E.g. Enterococci, **Staph. spp** **Strep. Group**
B, D and G, **Strep. viridans.**

- Não se deve misturar a denominação em português com a nomenclatura binominal, como por exemplo:

Riscos da bactéria *Staphylococcus aureus* - MD.Saúde

3 de mai. de 2022 — O *Staphylococcus aureus* (***Estafilococos aureus***) é uma das bactérias mais comuns na prática clínica, uma vez que costuma colonizar a pele dos seres ...

[O que é *Staphylococcus aureus*? · Infecções provocadas pelo...](#)

- Não se deve usar o nome da espécie isoladamente (sem a citação do gênero), como por exemplo:

BAM Chapter 12: Staphylococcus aureus - FDA

16 de dez. de 2019 — aureus is the causative agent of foodborne illness, to determine whether a food is a potential source of "staph" food poisoning, and to ...

Capítulo 2

Regras “Informais” de Designação de Bactérias em Textos Científicos

Apesar de verbalmente empregarmos os artigos definidos ("o", "os" ou "a", "as") na designação dos nomes em latim das bactérias, quando escrevemos isso não é aceito. Em textos científicos existem algumas regras adotadas comumente para designar bactérias, essas podem ser consideradas informais, mas o seu uso deve ser considerado obrigatório.

- **Uso de artigos definidos antes dos nomes das bactérias:**

Os artigos definidos **não devem ser usados antes** do nome em latim empregados na Nomenclatura Binomial:

Incorreto	Correto
A <i>Escherichia coli</i> da microbiota intestinal ...	<i>Escherichia coli</i> da microbiota intestinal...
O <i>Staphylococcus epidermidis</i> na pele ...	<i>Staphylococcus epidermidis</i> na pele ...

- **O uso dos artigos definidos é correto se o nome em latim da bactéria estiver precedido de um substantivo:**

Correto
A espécie <i>Escherichia coli</i> é um membro importante da microbiota intestinal...
A bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i> é prevalentemente encontrada ...
O gênero <i>Clostridium</i> apresenta duas espécies envolvidas em DTAs ...

Capítulo 3

Descrição Morfotintorial das Bactérias

Como o nome indica, é a descrição da **morfologia** da bactéria acompanhada da sua **reação tintorial**. A **descrição da morfologia da bactéria** deve ser iniciada pela forma individual da célula (em geral coco ou bastonete), seguida de alterações na morfologia individual (em geral: “lanceolado”, “reniforme”, encurvado; raramente: curto, longo, espiralado).

Em seguida deve ser informado também quando a **bactéria forma endósporos**. Caso ela não apresente essa característica, essa informação pode ser omitida. Caso a bactéria forme agrupamentos, como no caso dos cocos e eventualmente alguns bastonetes, deve existir a sua descrição (cocos agrupados dois a dois, cocos agrupados em cadeia, cocos agrupados em “cachos de uva”, tétrades, bastonetes agrupados em cadeia). Na descrição **não devem** ser empregados termos indicativos desses agrupamentos (estafilococos, estreptococos, ...) visto que esses não são uma descrição.

Quanto à **descrição da reação tintorial**, deve ser especificado o **Método de Coloração de Gram** (primeira letra em maiúsculo pois se refere à *Hans Christian Joachim Gram*), sendo a reação citada como Positiva ou Negativa. Eventualmente essa reação pode ser descrita como “Gram lábil”. No caso da Coloração de Ziehl-Neelsen (primeira letra em maiúsculo pois se refere à por Franz *Ziehl* e *Friedrich Neelsen*) a descrição em geral pode ser feita como Bastonete Álcool-Acido Resistente (BAAR – indica que a bactéria resiste a descoloração pela solução álcool-ácida). Em certos casos, pode ser descrito que os bastonetes são pleomórficos (variações na morfologia: em uma lâmina são vistos, por exemplo, bastonetes longos e curtos).

Descrição Morfotintorial das Principais Bactérias Causadoras de DTA:

Bactérias Causadoras de DTA	Descrição Morfotintorial
<i>Bacillus cereus</i>	Bastonete Gram Positivo Esporulado
<i>Clostridium botulinum</i>	Bastonete Gram Positivo Esporulado
<i>Clostridium perfringens</i>	Bastonete Gram Positivo Esporulado
<i>Listeria monocytogenes</i>	Bastonete Gram Positivo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos Gram Positivos, agrupados predominantemente em cachos de uva
<i>Campylobacter jejuni</i>	Bastonete curvo espiralado Gram Negativo
<i>Escherichia coli</i> diarreiogênica	Bastonete Gram Negativo
<i>Salmonella</i> sp.	Bastonete Gram Negativo
<i>Shigella</i> sp.	Bastonete Gram Negativo
<i>Vibrio cholerae</i>	Bastonete Gram Negativo encurvado (vibrião)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Bastonete Gram Negativo encurvado (vibrião)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Bastonete Gram Negativo

Descrição Morfotintorial dos Principais Patógenos Humanos:

Patógeno	Descrição Morfotintorial
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Cocos Gram Positivos, agrupados predominantemente em cadeias
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cocos Gram Positivos, lanceolados, agrupados dois a dois (diplococos lanceolados) Gram Positivos
<i>Streptococcus mutans</i>	Cocos Gram Positivos, agrupados predominantemente em cadeias
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cocos Gram Negativos, reniforme, agrupados dois a dois (diplococos reniformes) Gram Negativos
<i>Neisseria meningitidis</i>	Cocos Gram Negativos, reniforme, agrupados dois a dois (diplococos reniformes) Gram Negativos
<i>Haemophilus influenzae</i>	Bastonete (Cocobacilo)* Gram Negativo
<i>Clostridium tetani</i>	Bastonete Gram Positivo Esporulado
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Bastonete Pleomórfico Gram Positivo
<i>Helicobacter pylori</i>	Bastonete Encurvado/Espiralado Gram Negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	Bastonete Curto Gram Negativo

*Cocobacilo: bastonetes curtos ao ponto de parecerem cocos; diferem dos cocos pois não foram agrupamentos.

Capítulo 4

Glossário de Termos “Simples” de Microbiologia

Patógeno Microrganismos capazes de causar doenças no hospedeiro.	1
Termos Correspondentes:	
Patogênico.	
Termos Associados ou Variações:	
Patógeno Estrito; Patógeno Primário; Patógeno Oportunista; Patógeno Específico.	
Etimologia da palavra:	
<i>pathos</i> indica sofrimento, doença, e <i>genos</i> indica geração, nascimento.	
Patógeno Estrito Sua presença indica doença no hospedeiro.	2
Termos Correspondentes:	
Patógeno Primário.	
Nota:	
- São exemplos de bactérias: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ... - Pode ser aplicado aos vírus: HAV (Vírus da Hepatite A), HBV (Vírus da Hepatite B), Influenzavírus (Vírus da Gripe),...	
Patógeno Oportunista Existe normalmente na microbiota do hospedeiro sem causar doença, contudo no caso de comprometimento dos mecanismos de defesa do hospedeiro, particularmente do seu sistema imune, causará doença.	3
Termos Correspondentes:	
Oportunista.	
Patógeno Específico Termo utilizado em Microbiologia de Alimentos. No alimento, indica um possível agente causal de Doença Transmitida por Água e Alimentos (DTA).	4
Nota:	
- Nas análises microbiológicas de alimentos este termo serve para diferenciar estes agentes dos Microrganismos Indicadores. - Nos alimentos, enquanto os patógenos específicos podem causar DTA (<i>Salmonella</i> sp. – salmonelose; <i>Clostridium botulinum</i> – Botulismo alimentar; <i>Staphylococcus aureus</i> – DTA estafilocócica, ...), os microrganismos indicadores indicam a possível presença de patógenos específicos (<i>Escherichia coli</i> – indicador de contaminação fecal, ou seja, existe a possível presença de enteropatógenos como por exemplo a <i>Salmonella</i> sp.	
Saprófitas Em biologia indica um ser vivo que obtém compostos orgânicos a partir de outros seres em decomposição. Em Microbiologia indica um microrganismo que é incapaz de causar doença no hospedeiro sadio (hígido, são, sem comprometimento).	5
Termos Correspondentes:	
Saprófito.	
Etimologia da palavra:	
<i>sapros</i> indica podre, e <i>phyton</i> , indica planta.	
Nota:	
Usado geralmente para se contrapor ao termo Patogênico	

Comensal Se beneficia do hospedeiro, sem lhe causar danos.	6
<i>Etimologia da palavra:</i> com significa junto, e mensa significa mesa; commensalis , o que senta à mesma mesa que outro. Nota: • O sentido de “beneficia” para bactérias da microbiota é bem amplo, abrangendo nutrientes, temperatura, disponibilidade de água e outros fatores exigidos para o desenvolvimento das bactérias.	
Simbionte São, no caso da relação dos microrganismos com o hospedeiro, microrganismos que vivem em simbiose com o hospedeiro, ou seja essa relação é mutuamente vantajosa.	7
Termos Correspondentes: Simbiótico	
<i>Etimologia da palavra:</i> syn significa com união, já bios significa vida, e osis usado no sentido de processo, condição ou estado.	
Nota: • As relações simbióticas entre os microrganismos e o hospedeiro podem ser simples como por exemplo a troca de nutrientes essenciais que não são sintetizados, a até relações complexas onde por exemplo uma bactéria simbionte ocupa um receptor celular de ligação de uma bactéria patogênica (sítio de adesão), o que irá proteger o hospedeiro de infecções pela bactéria patogênica – esse processo é chamado de Exclusão Competitiva.	
Amensalismo Em Microbiologia descreve uma situação onde “uma” bactéria produz “uma” substância que altera o meio (“habitat”, sítio anatômicos) de modo a que ele se torne desfavorável a outros microrganismos.	8
<i>Etimologia da palavra:</i> a no sentido de negação, mesa no sentido de partilhar um alimento – essa etimologia da palavra possui um maior significado em biologia.	
Nota: • Em Microbiologia um exemplo de amensalismo seria quando uma bactéria faz fermentação com produção de ácidos, o “meio” fica acidificado e com isso ela consegue se desenvolver normalmente, mas outros microrganismos não adaptados a essa condição não se desenvolvem. • Antibiose em microbiologia seria quando um microrganismo produz uma substância que seria especificamente desfavorável em outro(s) microrganismo(s). Como exemplos podem ser citados a colicina, uma bacteriocina produzida pela <i>Escherichia coli</i> que atua (mata) sobre outras amostras dessa mesma espécie, e a penicilina uma substância produzida por um fungo (<i>Penicillium chrysogenum</i>, anteriormente denominado de <i>P. notatum</i>) que atua sobre várias espécies bacterianas, principalmente as Gram positivas.	
PAMPs É uma sigla oriunda do inglês: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i> (Padrões moleculares associados a patógenos). Como o nome indica são padrões de moléculas reconhecidas pelas células do sistema imune inato.	9
Nota: • Esses padrões moleculares em geral estão na superfície das bactérias como os ácidos teicóicos da parede celular, o LPS (lipopolissacarídeo) da membrana externa da parede celular e a flagelina dos flagelos. • Os padrões moleculares fazem parte de estruturas/substâncias constitutivas das bactérias possibilitando assim o seu reconhecimento pelo sistema imune inato sem a necessidade de um contato anterior das células efectoras dessa resposta imune. • Observe que existe um erro conceitual nesse termo, pois os Padrões Moleculares existem em bactérias independentemente dessas serem patogênicas ou não. Por exemplo, os ácidos teicóicos estão presentes em bactérias Gram positivas independentemente de serem patogênicas ou não, o mesmo vale para o LPS que está presente em bactérias Gram negativas ou a flagelina que existe nas bactérias flageladas. • Porções do RNA viral e do DNA bacteriano (oligonucleotídeo CpG não-metilado) também funcionam como PAMPs. • Dentre as células do sistema imune inato vale destacar: monócitos, macrófagos e células dendríticas. • As células do sistema imune inato geralmente reconhecem os PAMPs por receptores denominados PRRs (Receptor de Reconhecimento de Padrões).	

Autotróficos São capazes de produzir moléculas orgânicas para o seu metabolismo a partir de substâncias inorgânicas.	10
Termos Correspondentes: Autótrofo.	
Etimologia da palavra: <i>auto</i> significa si próprio, si mesmo, e <i>trophos</i> é a palavra usada no sentido de alimentar.	
Nota: • O seu principal metabolismo energético é a fotossíntese. Nesse processo existe a produção de substâncias orgânicas utilizando o gás carbônico e a água; • Um exemplo desse metabolismo: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{energia luminosa} = \text{Glicose} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$; • Exemplos de seres autotróficos: plantas, algas e algumas bactérias; • Entre as bactérias autotróficas destacam-se as cianobactérias.	

Heterotróficos Necessitam de matéria orgânica do meio externo para o seu metabolismo, pois não são capazes de produzi-la.	11
Termos Correspondentes: Heterótrofo.	
Etimologia da palavra: <i>hetero</i> significa outro ou diferente, e <i>trophos</i> é usada no sentido de alimentar, nutrição.	
Nota: • São vistos como “consumidores” ou “decompositores”, pois retiram seus nutrientes de outro ser vivo ou decompondo a matéria orgânica “morta” respectivamente. • Exemplos de seres heterotróficos: animais, fungos, algumas bactérias e alguns protozoários.	

Auxotróficos Em genética indicam mutantes que apresentam dependência a um nutriente essencial , que não é apresentada pelas células parentais (chamada de prototróficas).	12
Etimologia da palavra: <i>auxo</i> indica relação com crescimento, estimulação, aumento, aceleração, e <i>trophos</i> é usada no sentido de alimentar, nutrição.	
Nota: • Nos experimentos de genética, em geral, são utilizados mutantes auxotróficos para substâncias como os aminoácidos (um auxotrófico que não sintetiza triptofano é indicado como “trp”).	

Aeróbios Exigem oxigênio molecular livre (O_2) para o seu desenvolvimento.	13
Termos Correspondentes: Aeróbio Obrigatório; Aeróbio Estrito.	
Etimologia da palavra: <i>aero</i> indica ar, e <i>bios</i> indica vida.	

Anaeróbios Exigem ausência de oxigênio molecular livre (O_2) para o seu desenvolvimento. Fica subentendido que o O_2 é letal (ou tóxico) para essas bactérias.	14
Termos Correspondentes: Anaeróbio Obrigatório; Anaeróbio Estrito.	
Etimologia da palavra: <i>ana</i> (ou <i>a</i>) indica não, <i>aero</i> indica ar, e <i>bios</i> indica vida.	

Facultativos Se desenvolvem na presença ou na ausência de oxigênio molecular livre (O ₂). De forma mais técnica seriam microrganismos preferencialmente aeróbios que podem se desenvolver também em anaerobiose .	15
Termos Correspondentes: Anaeróbio Facultativo.	
Nota: • Observe que o metabolismo energético aeróbio é muito mais vantajoso que o anaeróbico, por isso esses microrganismos, havendo disponibilidade de oxigênio molecular livre (O ₂), se comportarão como Aeróbios .	

Anaeróbios Aerotolerantes Microrganismos anaeróbios que resistem a “breve” exposição a uma atmosfera com oxigênio molecular livre (O₂) .	16
Termos Correspondentes: Aerotolerante.	
Nota: • Esses microrganismos são incapazes de utilizar o O ₂ em seu metabolismo, porém esse não é letal (em breves exposições).	

Capnofílicos Se desenvolvem melhor na presença de CO ₂ , do ponto de vista técnico se desenvolvem melhor em uma atmosfera com cerca de 5 % de CO₂ (esta é a concentração obtida no “método da vela” ou com sistemas geradores de CO ₂ em “jarras” herméticas ou “estufas de CO ₂ ”).	17
Termos Correspondentes: Capnófilo.	
Etimologia da palavra: kapnos indica fumo, e neste caso indica especificamente CO₂ (anidrido carbônico ou dióxido de carbono), e philia indica “gostar de algo”, “amizade”, e neste caso indica especificamente exigência .	
Nota: • Apesar do sufixo philos indicar “gostar de algo” nas classificações dos tipos fisiológicos de bactérias ele indica EXIGÊNCIA ; no isolamento o Capnofílico exige CO ₂ , não é “gostar de algo” é uma exigência que se não for atendida impossibilita o crescimento da bactéria. • “Método da vela” é um método clássico onde a cultura bacteriana é colocada dentro de uma “jarra” hermética junto com uma vela acesa; quando da extinção da chama existiu a geração de cerca de 5 % de CO ₂ . • Sistemas geradores de CO ₂ são sachês descartáveis, contendo ácido ascórbico e carvão ativado, que são colocados em “jarras” herméticas junto com a cultura bacteriana que produzem CO ₂ . • Algumas espécies bacterianas no seu isolamento inicial (isolada a partir de material clínico) tem o crescimento estimulado pelo CO ₂ , como: <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Brucella abortus</i> , <i>Brucella ovis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i> .	

Termófilos Exigem para o seu desenvolvimento temperaturas na faixa de 50 a 60°C.	18
Termos Correspondentes: Termófilo Obrigatório.	
Termos Associados ou Variações: Termófilo Facultativo, Hipertermófilo.	
Etimologia da palavra: thermos indica temperatura, e philos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência.	
Nota: - Dependendo da fonte de consulta a faixa de temperatura pode variar (40 a 70°C), podendo chegar a temperaturas de até 90°C). - Observe que "se desenvolve" é diferente de "resiste", por exemplo: um Termófilo consegue se multiplicar (desenvolver) a 60°C, e os endósporos resistem a esta temperatura eles permanecem viáveis (ou mesmo a temperaturas superiores). Ou seja, após a exposição a essa temperatura elevada ele germinam e dão origem a formas vegetativas que se multiplicarão normalmente. Formas vegetativas podem resistir a adversidades e são denominadas com o uso do sufixo "dúrico".	

Termófilos Facultativos Mesófilos que conseguem se desenvolver em uma faixa de temperatura de 45°C a 55-65°C.	19
Nota: Esta faixa de temperatura 45°C a 55-65°C é muito importante pois, após o processamento térmico dos alimentos, durante o resfriamento, os alimentos permanecem por um longo período de tempo nesta faixa de temperatura. Isso permite que os esporos (que resistiram ao processamento térmico) germinem e suas formas vegetativas se multipliquem, o que muitas vezes pode resultar em deterioração do alimento ou, no caso de <i>Clostridium perfringens</i> e <i>Bacillus cereus</i>, em uma Doença Transmitida por Água e Alimentos (DTA).	

Hipertermófilos Se desenvolvem a temperaturas acima de 80°C, podendo chegar até cerca de 110 °C.	20
Termos Correspondentes / Associados / Variações: Extremófilos	
Etimologia da palavra: hupér indica acima, sobre, thermos indica temperatura, e philos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência.	
Nota: Os hipertermófilos estão dentro do grupo dos extremófilos, tendo somente importância ambiental.	

Termodúrico Resistem a processamentos térmicos brandos (pasteurização), mas não se multiplicam na temperatura do processo.	21
Variações: Termodúrico Não Esporogênico	
Etimologia da palavra: thermos indica temperatura, e durico indica resistência.	
Nota: - Os de maior importância são os não esporulados (muitas vezes fica subentendido que são não esporulados, pois todo esporo resistiria a processamentos térmicos brandos, não seria necessária esta denominação). - No caso de leite/laticínios os de maior importância são os Termodúricos Psicotróficos, pois após o processo de pasteurização existe a sua conservação por refrigeração, condição esta que favorece os psicotróficos.	

Mesófilos Exigem para o seu desenvolvimento temperaturas na faixa de 25 a 45 °C.	22
<i>Etimologia da palavra:</i> meso indica meio, médio, e phílos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência. Nota: • Uma definição também utilizada, menos técnica, mas bem compreensível pois esse grupo é prevalente na microbiota e nos patógenos humanos: se desenvolvem bem a uma temperatura próxima a temperatura corpórea (no homem cerca de 36,5 °C).	
Psicrotróficas Se desenvolvem a temperatura ambiente, às vezes na faixa de temperatura dos mesófilos, e de particular importância na faixa de temperatura de 0 a 7 °C, isto porque a temperatura de geladeiras domésticas é 2 a 8 °C.	23
<i>Etimologia da palavra:</i> psykhrós indica frio, e trophos indica é a palavra usada no sentido de alimentar. Nota: • São extremamente importantes como microrganismos da microbiota de alimentos, e principalmente como deteriorantes de alimentos conservados sob refrigeração. • Quando cultivados em placas colocadas na geladeira o tempo para desenvolvimento das colônias é relativamente demorado (cerca de 1 a 2 semanas). Com base no tempo de formação das colônias podem ser divididas em estenopsicrotrófico (colônias visíveis em cinco dias) e europsicrotrófico (colônias visíveis a partir do sexto ao décimo dia).	
Psicrófilos Se desenvolvem na faixa de temperatura de 0 a 20 °C, com uma temperatura ótima de crescimento na faixa de 10 e 15°C.	24
<i>Etimologia da palavra:</i> psykhrós indica frio, e phílos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência. Nota: • Muitas vezes as descrições das exigências de temperatura dessas bactérias se confundem com a dos Psicrotróficos. • Pode-se considerar que os Psicrófilos são extremófilos, e, portanto, microrganismos de importância ambiental. Estão presentes em solos árticos e alpinos, formações de gelo e mares gelados. Já os Psicrotróficos seriam de importância na microbiota de alimentos e consequentemente como deteriorantes.	
Halófilos Exigem para o seu desenvolvimento concentrações “elevadas” de Cloreto de Sódio (mais que as habitualmente usadas nos meios de cultivo – 0,5 %).	25
Termos Correspondentes / Associados / Variações: Halófilos Extremos <i>Etimologia da palavra:</i> háls indica sal ou mar, e phílos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência. Nota: • Os valores citados como exigência de NaCl podem variar na literatura dependendo da fonte consultada. • Podem ser classificados como Halófilos Leves (exigem 2 a 3 % de NaCl; Halófilos Moderados (exigem de 5 a 20 % de NaCl) e Halófilos Extremos (15 a cerca de 30 %). • Halófilos Extremos pertencem ao grupo dos Extremófilos.	

Halotolerantes	
São Não Halófilos que suportam o aumento da concentração de Cloreto de Sódio a até cerca de 8 a 10%.	26
<i>Etimologia da palavra:</i> <i>hális indica sal ou mar.</i>	
Nota: • Em geral esse aumento progressivo da concentração de NaCl ocorre durante a salga dos alimentos.	

Osmófilo	
Exigem para o seu desenvolvimento concentrações “elevadas” de “açúcares”.	27
Termos Correspondentes: <i>Osmofílico.</i>	
<i>Etimologia da palavra:</i> <i>Osmós indica impulso, empurrão, e philos indica "gostar de algo", mas neste caso indica especificamente exigência.</i>	
Nota: • Esses termos, e os associados a ele (Omotolerantes), são bem menos precisos que o termos: Halófilo e Halotolerantes. • Em uma análise bem crítica Osmófilo indicaria exigência de um meio com alta osmolaridade = pressão osmótica, que poderia ser conseguida tanto pela adição de cloreto de sódio como pela adição de “açúcares”; mas independentemente disso esses termos são usados com os significados originais e devem assim ser conceituados.	

Osmotolerantes	
São Não Osmófilos que suportam o aumento da concentração de “açúcares” do meio.	28
<i>Etimologia da palavra:</i> <i>osmós indica impulso ou empurrão, e tolerante, que nesse caso indica que o microrganismo não exige para seu desenvolvimento, mas suporta altas pressões osmóticas decorrentes da alta concentração de “açúcares”.</i>	
Nota: • Vide “Nota” do item Osmofílico.	

Capítulo 5

Fatores que Potencializam a Bactéria a Causar DTA

Causar um surto de DTA não é uma tarefa fácil ou aleatória. Muitas vezes o agente causal presente no alimento deve resistir a cocção dos alimentos, ou então deve conseguir se multiplicar mais rapidamente que outros microrganismos da microbiota, e até mesmo se multiplicar quando o alimento é submetido a baixas temperaturas ou a salga. Com isso, o conhecimento dos fatores que permitem aos microrganismos resistirem e se multiplicarem nos alimentos é muito importante, pois esses possibilitam que o agente causal da DTA poderá atingir a Dose Infectante ou produzir toxinas na Dose Intoxicante.

Principais Fatores que Potencializam a Bactéria a Causar DTA

Principais Bactérias Causadoras de DTA	Principais Fatores que Potencializam a Bactéria a Causar DTA			
<i>Bacillus cereus</i> emético	Esporulado	Termófilo Facultativo	Produzir Enterotoxina Termoestável	
<i>Bacillus cereus</i> diarreico	Esporulado	Termófilo Facultativo		
<i>Clostridium botulinum</i> Grupo 1	Esporulado	Halotolerante		
<i>Clostridium botulinum</i> Grupo 2	Esporulado	Psicrotrófica		
<i>Clostridium perfringens</i>	Esporulado	Aerotolerante		
<i>Listeria monocytogenes</i>	Psicrotrófica	Halotolerante	Baixa Dose Infectante	Aumento da População de Risco
<i>Staphylococcus aureus</i>	Halotolerante	Produzir Enterotoxina Termoestável		Portadores
<i>Campylobacter jejuni</i>	Presentes em Animais de Criação			
<i>Salmonella</i> sp.	Presentes em Animais de Criação			
<i>Shigella</i> sp.	Baixa dose Infectante			
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Hábito Alimentar de Risco			

Veja abaixo a explicação de como esses fatores potencializam a bactéria a causar DTA:

Por que ser esporulado potencializa a bactéria a causar DTA?

Os endósporos são resistentes aos processamentos térmicos com temperatura de até 100°C. Com isso, após o processamento térmico só existem esporos nos alimentos. Caso esse alimento seja exposto a uma Temperatura Perigosa os endósporos podem germinar e as formas vegetativas se multiplicarem ativamente devido à baixa competição pela microbiota reduzida que foi selecionada pelo processamento térmico.

Por que ser termófilo facultativo potencializa a bactéria a causar DTA?

Uma parcela significativa dos alimentos são coccionados antes de serem consumidos. Esse processamento térmico elimina as formas vegetativas selecionando as formas esporuladas. Muitas vezes após finalizado o aquecimento, os alimentos são mantidos a temperatura ambiente para resfriar, possibilitando sua posterior colocação no refrigerador. Durante o resfriamento o alimento fica por um tempo prolongado dentro da faixa de Temperaturas Perigosas (60 a 10°C). Os termófilos facultativos, apesar de serem mesófilos, conseguem se multiplicar na faixa de temperatura de **45 a 55-65 °C**, e com isso sua população aumenta expressivamente aumentando o risco da ocorrência de DTA.

Por que produzir enterotoxina termoestável potencializa a bactéria a causar DTA?

Muitos alimentos antes de serem servidos são aquecidos. Este aquecimento objetiva tornar o alimento apreciável pelo comensal, mas também pode ser considerado um **Ponto Crítico de Controle*** capaz de eliminar formas vegetativas das bactérias e toxinas termolábeis. As toxinas termoestáveis, apesar de serem de natureza proteica, **não sofrem desnaturação quando expostas a temperaturas elevadas (100 °C)**, e consequentemente **não perdem sua toxicidade**. Desse modo, o aquecimento não seria um PCC, o **que aumenta o risco da ocorrência de DTA quando essas toxinas termoestáveis estão presentes no alimento**.

***Nota Explicativa:**

Ponto Crítico de Controle (PCC) é um dos “princípios” de um sistema aplicado a alimentos que é a **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC, em inglês HACCP - Hazard Analysis and Critical Control Point)**. É um sistema de controle sobre a segurança do alimento mediante a análise e controle dos riscos biológicos, químicos e físicos em todas as etapas, desde a produção da matéria prima até a fabricação, distribuição e consumo. Sua implementação desse sistema é obrigatória para os fabricantes de alimentos. **PCC é qualquer etapa do fluxograma de produção do alimento que visa prevenir, controlar ou eliminar um “perigo”**. Os microrganismos são vistos no APPCC como Perigos, pois podem causar deterioração ou Doenças Transmitidas por Água e Alimentos (DTAs). Desse modo, processos como a refrigeração, o congelamento e a cocção, e procedimentos como a sanitização e a antisepsia são vistos como PCC.

Por que ser halotolerante potencializa a bactéria a causar DTA?

Muitos alimentos são submetidos a salga branda (ex.: queijos, carnes, salmoura de conservas, salmoura do procedimento de salga). O objetivo da salga é reduzir a Atividade Água (Aa) do alimento, e com isso a possibilidade de desenvolvimento de microrganismos no alimento fica limitada. Os halotolerantes suportam esse aumento da concentração de sal, com consequente redução da Aa, até valores de até cerca de 8-10 %, mantendo a sua capacidade de crescimento no alimento. Como após essa salga branda pode existir um relaxamento nos cuidados na conservação do alimento, as bactérias halotolerantes podem se multiplicar aumentando o risco da ocorrência de DTA.

Por que ser psicrotrófica potencializa a bactéria a causar DTA?

A refrigeração é um dos processos de conservação de alimentos mais empregados. As bactérias psicrotróficas podem se multiplicar a temperatura de refrigeração (≈ 2 a 8 °C), lentamente se comparada com a temperatura ótima de crescimento (em geral 20 a 30 °C). Contudo, existem atualmente categorias de produtos conservados sob refrigeração que

possuem um tempo de prateleira prolongado, possibilitando um aumento seletivo dos psicrotróficos, e com isso aumentando o risco da ocorrência de DTA.

Por que ser anaeróbio aerotolerante potencializa a bactéria a causar DTA?

A exposição a uma atmosfera contendo oxigênio é letal para bactérias anaeróbias obrigatórias. Com isso, elas têm grande dificuldade (ou impossibilidade) de se multiplicarem na maioria dos alimentos, só encontrando condições adequadas quando o Eh é reduzido, como por exemplo enlatados e embutidos. Os anaeróbios aerotolerantes conseguem se multiplicar em ambientes que sofreram a ação oxidante do oxigênio (Eh oxidado), como por exemplo, a parte interna de um pedaço de carne. Com isso, os endósporos de bactérias anaeróbias aerotolerantes presentes em vegetais secos injetados como condimentos em peças de carne conseguem germinar e as formas vegetativas se multiplicarem, o que não ocorre com os anaeróbios obrigatórios. Essa multiplicação de bactérias no alimento aumenta o risco da ocorrência de DTA.

Por que a baixa dose infectante potencializa a bactéria a causar DTA?

Essa é uma condição que aumenta a possibilidade de qualquer bactéria que cause infecção determinar uma DTA. Porém, isso é imprescindível para algumas bactérias que são introduzidas nos alimentos imediatamente antes da sua ingestão para causem DTA. Situações como alimentos expostos a vetores (moscas, baratas, ...) ou que sejam manipulados ao serem servidos com as mãos (sem o uso de uma luva ou, até melhor, uma pinça) podem ter a possibilidade de que quantidades reduzidas de bactérias sejam introduzidas nos alimentos, e com isso, se tiverem baixa dose infectante, existe o risco da ocorrência de DTA.

Por que o aumento da população de risco potencializa essas bactérias a causarem DTA?

Especificamente entre os agentes causadores de DTAs a *Listeria monocytogenes* causa quadros infecciosos “leves” em indivíduos imunocompetentes e quadros graves em imunocomprometidos. Nas últimas décadas, o número de indivíduos com algum grau de imunocomprometimento na população aumentou consideravelmente (ex.: transplantados, submetidos a terapias imunossupressoras, grávidas, ...) fazendo com que os quadros graves de listeriose aumentassem progressivamente (DTA emergente).

Por que a existência de portadores potencializa a bactéria a causar DTA?

Muitos alimentos são manipulados em etapas do seu preparo onde após não existe nenhum ponto crítico de controle. Em algumas situações a bactéria é introduzida no alimento e pela ocorrência de falhas como a exposição a temperaturas perigosas e/ou preparo antecipado do alimento existe a multiplicação da bactéria, e com isso a dose infectante pode ser atingida, ou no caso de bactérias produtoras de toxinas, pode existir produção da dose intoxicante, e com isso aumento do risco da ocorrência de DTA. Uma outra possibilidade, menos frequente, mas ainda importante, é o manuseio de alimentos de ingestão direta por portadores de uma bactéria tipicamente enteropatogênica com mãos desprotegidas (sem o uso de uma luva ou, até melhor, uma pinça).

Por que a presença em animais de criação potencializa essas bactérias a causarem DTA?

Muitas bactérias que são capazes de causar DTA podem estar presentes em animais criados com o objetivo de ser (ex.: carne) ou fornecer (ex.: leite, ovos) alimentos para o homem. Com isso, essas bactérias podem ser veiculadas por esses produtos de origem animal para o homem, e com isso aumentar o risco da ocorrência de DTA.

Por que um hábito alimentar de risco potencializa essas bactérias a causarem DTA?

Uma das formas mais eficazes na prevenção de DTAs é a cocção dos alimentos, em particular imediatamente antes deles serem servidos. Muitas vezes, alguns indivíduos ou grupos populacionais podem ter hábitos alimentares que aumentam o risco da ocorrência de DTAs. Situações que exemplificam bem essa situação é o consumo de leite cru antes da pasteurização, de queijos produzidos com leite não pasteurizado ou do consumo de carnes cruas ou com cocção insuficiente como em peixes e frutos do mar (ex.: ceviche, sashimi) ou de carne bovina (ex.: *carpaccio*, *steak tartar*, quibe cru).

Capítulo 6

Glossário de Termos e Conceitos Importantes de Microbiologia

Glicocálice

1

Nas bactérias essa estrutura pode ser dividida em:

Cápsula- as EPS formam uma **estrutura organizada, cuja morfologia acompanha a da célula bacteriana e que está firmemente aderida à parede celular**;

Camada limosa- as EPS formam uma **estrutura “desorganizada”, amorfa e que não está firmemente aderida à parede celular**.

Etimologia da palavra:

Literalmente seria um revestimento de “açúcar” na superfície das células.

Cápsula

2

É uma **camada externa à parede celular, com bordos definidos e composta por substâncias poliméricas extracelulares (EPS)**.

Nota:

- É produzida por algumas bactérias Gram positivas (ex.: *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*) e Gram negativas (ex.: *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*).
- **Sua composição é geralmente polissacarídica**, existindo também as de natureza proteica como a produzida por *Bacillus anthracis*. Essa bactéria causa em animais o carbúnculo, e no homem causa o antraz, uma infecção que pode se manifestar como lesões na pele a até formas pneumônicas extremamente graves.
- A função da cápsula nos patógenos é **proteger da fagocitose**, sendo um importante **mecanismo de evasão do sistema imune**.
- O **polissacarídeo capsular é geralmente imunogênico** permitindo o seu emprego, conjugado ou não a outras substâncias, na produção de vacinas, com isso as bactérias capsuladas ficam sujeitas a **fagocitose opsonizada**.
- São exemplos dessas vacinas: Vacina Pneumocócica (VPP23- Vacina Polissacarídica Pneumocócica contra 23 sorotipos capsulares), a Vacina Meningocócica (Vacina meningocócica conjugada quadrivalente — contra os sorotipos capsulares A, C, W e Y), Vacina *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib- vacina contra o *H. influenzae* sorotipo b).

Biofilme	3
São agregados de células incorporadas em uma matriz autoproduzida de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), substância essa que possibilita a adesão intercelular e a adesão a uma superfície. Essa superfície geralmente é abiótica (inanimada), contudo cada vez mais são descritas situações da formação de biofilme “in vivo” como por exemplo na superfície de um cateter venoso de longa permanência, de uma prótese ortopédica, de uma válvula cardíaca “artificial” e até mesmo sobre o epitélio de feridas crônicas de pele. A composição da matriz polimérica extracelular mais comum é polissacarídica, existindo também as de natureza proteica ou de DNA extracelular (eDNA).	
<i>Etimologia da palavra:</i> Termo composto por bio que indica vida, porém mais especificamente nesse termo indicaria células, e filme que indicaria uma deposição de material em uma superfície.	

Micotoxinas	4
São metabólitos tóxicos secundários produzidos por fungos filamentosos que apresentam toxicidade para o homem e outros animais, podendo ter atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica.	
<i>Etimologia da palavra:</i> Literalmente seriam toxinas produzidas por fungos.	
Nota: • <i>As mais importantes (frequentes) são as Aflatoxinas, Zearelonona, Fumonisinias, Tricotecenos e Ocratoxina A.</i> • <i>A contaminação e o desenvolvimento fúngico no vegetal (geralmente grãos), mais importantes em termos de potencial de disseminação da micotoxina nos alimentos, pode se dar antes da colheita (Fungos de Colheita) e no armazenamento (Fungos de Armazenamento).</i> • <i>Os vegetais mais afetados são os grãos como o milho, amendoim, milho, trigo, soja, aveia, cevada, centeio, sorgo, amêndoas.</i> • <i>Em grãos a principal falha que propicia é o armazenamento em condições de elevada umidade e temperatura.</i> • <i>Podem ser produzidas em frutas.</i> • <i>Podem ser produzidas em rações e silagem utilizada para alimentação de animais, e consequentemente podem estar na carne e derivados (leite).</i> • <i>Podem existir em produtos derivados ou processados a partir de vegetais contaminados como suco de frutas (suco de maçã), vinho, frutas secas, pimenta, especiarias, café (torrado e moído ou solúvel).</i>	

Tempo de Geração (TG)	5
Período de Tempo em que uma célula bacteriana se multiplica formando duas novas células. Em geral, em condições ótimas as bactérias mais frequentes em infecções do homem e de outros animais, bem como as presentes em alimentos, possuem um TG de 15 a 30 minutos. Existem bactérias que possuem TG muito elevados, como as micobactérias patogênicas ao homem que em meios de cultivo podem apresentar um TG de 18 a 24 h.	

Curva de Crescimento Bacteriano	6
Representação gráfica do crescimento bacteriano em um volume constante de meio (sem renovação) onde a população bacteriana é quantificada periodicamente, e os dados são apresentados em um gráfico semi-log (eixo x: tempo; eixo y em escala logarítmica: população bacteriana).	
Fase de Latência	7
Fase (1ª) da Curva de Crescimento Bacteriano onde não existe o aumento da população apesar das bactérias estarem ativas metabolicamente, sintetizando as enzimas necessárias a metabolização dos nutrientes do meio de cultura.	
Fase de Crescimento Exponencial	8
Fase (2ª) da Curva de Crescimento Bacteriano onde as bactérias estão se multiplicando ativamente e o aumento da população bacteriana ocorre em progressão geométrica. Nesta fase da curva as bactérias apresentam os menores valores do Tempo de Geração (TG).	
Fase Estacionária de Crescimento	9
Fase (3ª) da Curva de Crescimento Bacteriano onde as bactérias estão se multiplicando, mas não existe aumento da população bacteriana, pois o número de bactérias que “nasce” é igual ao número de bactérias que “morre”. A “morte” de bactérias é o resultado da escassez de nutrientes e o acúmulo de excretas bacterianas no meio.	
Fase de Declínio	10
Fase (4ª) da Curva de Crescimento Bacteriano onde o número de bactérias que “morre” é superior ao número de bactérias que “nasce” fazendo com que exista um declínio da população bacteriana. A “morte” de bactérias é o resultado da escassez de nutrientes e o acúmulo de excretas bacterianas no meio.	
Microbiota	11
Conjunto de microrganismos normalmente presentes em um local, ambiente, alimento ou sítio anatômico. Em geral são populações com uma diversidade de microrganismos, exceto na presença de adversidades que selecionem um grupo específico de microrganismos (ex.: salinidade da água do mar; pH ácido do suco de uma fruta cítrica; baixa disponibilidade de água na superfície da pele).	
Nota: • Em particular na microbiota associada ao homem e outros animais, alguns autores utilizam o termo Microbiota Normal (redundante pois no conceito já está colocado que ela é “normalmente” presente). • Eventualmente pode ser encontrado ainda o uso do termo “Flora” ou “Flora Normal”, mas esse se encontra totalmente desatualizado sendo do tempo em que as bactérias eram confundidas com vegetais.	

Microbiota Residente	12
Esse termo é usado geralmente na descrição da microbiota de homem e animais. Conjunto de microrganismos, geralmente são comensais e saprófitas, normalmente presentes em um sítio anatômico.	
Nota: • A microbiota de cada sítio anatômico é característica, normalmente composta por vários gêneros e espécies, muitas vezes as mais adaptadas às características locais. • Se instala ao nascimento durante a passagem do concepto pelo canal de parto e permanece por toda vida. Pode sofrer alterações em função da idade, do seu ciclo hormonal, dos hábitos higiênicos (uso de produtos cosméticos com ativos antimicrobianos, ex.: desodorante, creme dental) e do ambiente onde o indivíduo vive. • Presente geralmente em sítios anatômicos que possuem comunicação com o meio ambiente como a pele, a mucosa do trato digestório, partes da mucosa do trato respiratório e geniturinário.	

Microbiota Transitória	13
Esse termo é usado geralmente na descrição da microbiota de homem e animais. Conjunto de microrganismos provenientes do ambiente, que habitam a pele e as superfícies de algumas mucosas por um período reduzido de tempo, por isso sua caracterização como “Transitória” (no sentido de temporária).	
Nota: • Em geral, esses microrganismos são eliminados pelos procedimentos de limpeza e higiene pessoal, e pelos mecanismos de controle da microbiota do hospedeiro. • Muitas vezes, não é possível ou necessário fazer sua caracterização em saprófitas ou patogênicos, pois são oriundos do ambiente. • Esses microrganismos não fazem a colonização dos sítios anatômicos, isto é não existe aderência às células do hospedeiro o que possibilita que eles sejam facilmente REMOVIDOS por procedimentos de limpeza ou ELIMINADOS pelo uso de antissépticos.	

Disbiose	14
É uma condição clínica (não é uma doença) onde existe um desequilíbrio da microbiota prevalecendo a microbiota “pró-inflamatória” (não patogênica, pois não existe doença) sobre a microbiota “reguladora”.	

Microbioma	15
Termo usado para se referir a totalidade do patrimônio genético (conjunto de genes) que a microbiota possui. Passou a ser utilizado com o desenvolvimento da Metagenômica, técnica que permite estudar genomas de microrganismos de “ecossistema” sem a necessidade de realizar culturas individuais.	

Bacteriocinas	16
São pequenos peptídeos que possuem ação antimicrobiana, bactericida ou bacteriostática, sobre outras bactérias classicamente da mesma espécie ou estreitamente relacionadas com elas. São exemplos a Colicina (produzida por <i>Escherichia coli</i>) e a Piocina (produzida por <i>Pseudomonas</i> sp.).	
Nota: • Diferem dos antibióticos produzidos por microrganismos, como por exemplo a Penicilina, pois esses são produzidos e atuam em espécies distantes taxonomicamente e possuem um grande espectro de ação. A penicilina é produzida por um fungo e age em bactérias de numerosos gêneros e espécies. • Descritas mais recentemente as bacteriocinas produzidas por Bactérias do Ácido Lático (BAL). São as mais estudadas por seu uso na conservação dos alimentos. As BAL produtoras de bacteriocinas foram selecionadas a partir de amostras utilizadas na fermentação de alimentos, e que também possuíam a capacidade de produzir bacteriocinas de amplo espectro, ou mais especificamente que atuavam sobre patógenos capazes de causar DTA veiculados por aquele alimento. Por exemplo a Nisina produzida por amostras de <i>Lactococcus lactis</i> atua sobre <i>L. monocytogenes</i> um importante patógeno específico de DTAs. Sua ação é tão eficaz que ela já é produzida, extraída e purificada para ser comercializada como aditivo (conservante) de alimentos.	

Portador (Estado de Portador)	17
Estado em que o indivíduo apresenta uma bactéria tipicamente patogênica em um sítio anatômico, se comportando como membro da Microbiota Residente e causar infecção/doença, se portando o indivíduo assintomático.	
Nota: • Muitas vezes denominado de Portador Assintomático (redundante pois no conceito já está colocada “sem ocorrência de infecção/doença”). • A bactéria em questão é tipicamente patogênica, apesar de não estar causando doença no hospedeiro (por isso a redundância “Portador Assintomático”). • Explicada epidemiologicamente, na maioria das vezes, pela necessidade de alguns microrganismos que não possuem outros reservatórios que o homem (antropofílicas) se manterem na natureza quando não estão causando doença. • Pode ser dividido em: Convalescente, Intermitente e Persistente.	

Estado de Portador Convalescente	18
Ocorre quando o indivíduo está convalescendo (período de recuperação após a doença) de uma doença causada pela bactéria.	
Nota: • Exemplos: ➤ Portador Intestinal de <i>Salmonella typhi</i> – após a doença Febre Tifoide. ➤ Portador Faríngeo de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> – após a doença Difteria.	

Estado de Portador Intermitente	19
Ocorre quando o patógeno se instala por um curto período de tempo (dias) na microbiota do indivíduo, e muitas vezes repetidamente.	
Nota: • Exemplos: ➤ Portador Nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>. ➤ Portador Nasofaríngeo de <i>Neisseria meningitidis</i>.	

Estado de Portador Persistente	20
Ocorre quando o patógeno se instala por um longo período de tempo (meses a anos) na microbiota do indivíduo.	
Nota: • Exemplo: ➤ Portador Nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>.	

Probióticos	21
Pode se referir a microrganismos ou a produtos/suplementos alimentares (alimentos funcionais). São microrganismos vivos (na sua maioria), que administrados em quantidades adequadas continuamente, conferem benefícios à saúde do hospedeiro.	
Nota: • Para que o microrganismo possa ser classificado como probiótico ele deve atender a inúmeras exigências estabelecidas pela ANVISA, tais como: ➤ Identificação fenotípica e genotípica; ➤ Identificação do grupo ou classe de risco do microrganismo (deve ser classificado por órgãos como o MS- Ministério da Saúde e/ou CDC- <i>Center for Disease Control</i> e/ou EFSA- <i>European Food Safety Authority</i> e/ou WHO- <i>World Health Organization</i> como GRAS (<i>Generally Recognized as Safe</i>) ou QPS (<i>Qualified Presumption of Safe</i>); ➤ Não devem possuir genes de resistência a antibióticos capazes de serem transferíveis horizontalmente; ➤ Não devem possuir genes de qualquer fator de virulência;	

Prebióticos	22
Pode se referir a substâncias isoladamente ou a produtos/suplementos alimentares (alimentos funcionais). São componentes alimentares, não absorvíveis e não-digeríveis pelas enzimas do trato digestório, cujo consumo regular afeta benéficamente o hospedeiro pelo estímulo seletivo da proliferação ou atividade de populações de bactérias probióticas.	

Simbióticos	23
Produto em que se tem a associação dos probióticos com os prebióticos com a finalidade de aumentar as chances de sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestório e a sua colonização intestinal, isto porque os prebióticos são nutrientes “específicos” para os probióticos.	
Inulina	24
É um polissacarídeo de reserva vegetal do tipo frutano (polissacarídeo da frutose com uma unidade de glicose terminal - GF_n), em geral obtido a partir do tubérculo da chicória (<i>Cichorium intybus</i>). O seu Grau de Polimerização (GP) é de 10 a 65 resíduos de sacarídeos. São fibras solúveis constituídas por um polímero linear de resíduos de sacarídeos, com ligações glicosídicas $\beta(2\rightarrow1)$ fazendo com que não seja digerível por enzimas do trato digestório.	
Fruto-Oligossacarídeo (FOS)	25
São frutanos do tipo inulina (polímero linear de resíduos de sacarídeos, com ligações glicosídicas $\beta(2\rightarrow1)$) que apresentam ou não um grupo terminal de glicose, com um Grau de Polimerização de 2 a 10 resíduos de sacarídeos. Geralmente são obtidos a partir da hidrólise da inulina. Uma outra opção para produção de FOS é a síntese pela transfrutossilação em resíduos de sacarose, sendo os produtos obtidos com um GP de até 5 resíduos de sacarídeos.	
Antissepsia	26
Procedimento executado sobre um tecido vivo, íntegro ou lesado, empregando uma substância química denominada antisséptico que possui ação antimicrobiana.	
Nota: • No caso do Procedimento aplicado às mãos a ANVISA, a partir da publicação do manual “Segurança do Paciente - Higienização das Mãos”, passou a adotar os termos Higienização Simples para a lavagem com água e “sabonete” (que pode auxiliar na remoção da Microbiota Transitória, mas não em efeito na Microbiota Residente), Higienização Antisséptica, Fricção Antisséptica das Mãos com preparações alcoólicas e Antissepsia Cirúrgica das Mãos ou Preparo Pré-Operatório de Mãos. • Higienização Simples seria equivalente a Limpeza, ou seja, objetiva a remoção de sujidades com o uso de água e sabão (sabonete). Não teria como objetivo uma ação específica sobre a microbiota pois sabão (sabonete) não teria atividade antimicrobiana.	
Antisséptico	27
Produto farmacêutico ou ativo de produto farmacêutico empregado na antissepsia que se caracteriza pela ação antimicrobiana, podendo ter Ação Microbicida ou Ação Microbicida e Ação Microbiostática.	
Nota: • No Brasil os principais ativos de produtos antissépticos mais usados são os álcoois, a clorexidina, os iodóforos e o triclosan.	
Assepsia	28
Conjunto de Processos e Procedimentos objetivando o controle de microrganismos em um determinado objeto ou local.	

Ação Microbicida	29
Ação de uma substância antimicrobiana que resulta na lise de microrganismos, ou na inibição da sua multiplicação de forma irreversível (não existe lise imediata dos microrganismos, mas ele fica impossibilitado de se multiplicar).	
Ação Microbiostática	30
Ação de uma substância antimicrobiana que resulta na inibição da multiplicação dos microrganismos de forma reversível.	
Nota: • Ação Residual = Atividade Residual = Efeito Residual = Ação Persistente se refere a resíduos do antisséptico que se ligam aos tecidos durante a antisepsia e que mantém uma ação antimicrobiana (microbiostática) persistente. Essa ação pode se manter por horas (clorexidina e iodóforos em torno de 6 horas).	
Desinfecção	31
Procedimento executado sobre uma superfície inanimada, empregando uma substância química denominada desinfetante que possui ação antimicrobiana, visando o controle de microrganismos de importância higiênico-sanitária . Esse procedimento é executado particularmente no ambiente hospitalar e em banheiros e bacias sanitárias.	
Desinfetante	32
Produto domissanitário ou ativo de produto domissanitário empregado na desinfecção.	
Procedimento	32
Na visão dos Sistemas de Gestão da Qualidade, se refere uma ação realizada pelo ser humano . Requer um método escrito, validado, executado por um indivíduo treinado, retreinado periodicamente e sujeito a supervisão e avaliação periodicamente da sua execução. Exemplos: Procedimento de Antissepsia; Procedimento de Desinfecção; Procedimento de Sanitização; Procedimento de Limpeza.	
Processo	33
Na visão dos Sistemas de Gestão da Qualidade, se refere uma ação realizada por um equipamento . Exemplos: Processo de Esterilização em Autoclave; Processo de Pasteurização em Pasteurizador de Placas; Processo de Esterilização por Filtração.	
Sanitização	34
Procedimento executado sobre uma superfície inanimada, empregando uma substância química denominada sanitizante que possui ação antimicrobiana, visando o controle de microrganismos de importância higiênico-sanitária . Esse procedimento é executado exclusivamente em ambientes e superfícies de manipulação de alimentos, e eventualmente em alguns alimentos (ex.: vegetais folhosos de ingestão direta).	
Sanitizante	35
Produto domissanitário ou ativo de produto domissanitário empregado na sanitização.	

Capítulo 7

Glossário de Termos e Conceitos Importantes em Surtos de DTAs

Infecção (Infecção de Origem Alimentar)

1

Ocorre quando a dose infectante do agente causal é ingerida pelo comensal junto com água ou alimentos, os microrganismos resistem ao pH ácido do estômago e chegam aos intestinos, onde após vencerem a camada de muco que recobre o epitélio fazem aderência aos enterócitos e exercerão os seus diferentes mecanismos de enteropatogenicidade. Esses, em geral, são a produção de toxinas (enterotoxina, citotoxina) e a invasão do enterócito (invasão intraepitelial e invasão transepitelial).

Dose Infectante (na Infecção de Origem Alimentar)

2

É o número de microrganismos que deve ser ingerido para que o comensal manifeste a infecção. É expressa em número de bactérias (a mais correta seria em Unidades Formadoras de Colônias). Por exemplo: shigelose a dose infectante é cerca de 100 (10^2) ufc; na listeriose a dose infectante para população de risco é cerca de 1.000 (10^3) ufc; na cólera a dose infectante é cerca de 100.000 (10^5) ufc.

Nota:

- Observe que o número de microrganismos da dose infectante não é expresso em ufc/g ou ufc/mL, isto porque as quantidades de alimentos ou água ingeridos por cada comensal são diferentes.
- A dose infectante depende de inúmeros fatores relacionados ao comensal, como por exemplo a idade, estado imune, estado nutricional e doenças crônicas pré-existentes.
- Como regra, em comensais nos extremos etários, imunodeprimidos ou desnutridos a dose infectante é menor que em indivíduos sãos.

Intoxicação (Intoxicação de Origem Alimentar)

3

Ocorre quando a **dose intoxicante da toxina pré-formada no alimento é ingerida** pelo comensal. Não é necessária a presença do microrganismo toxigênico concomitantemente no alimento para que a intoxicação ocorra.

Nota:

- No caso de toxinas termoestáveis em **alimentos aquecidos antes de serem servidos** é comum que não seja detectada a presença ou sejam detectadas quantidades menores que as consideradas “significativas” do microrganismo toxigênico.
- “Contagem Significativa” do microrganismo toxigênico se refere à população capaz de produzir a toxina na dose intoxicante.

Dose Intoxicante (na Intoxicação de Origem Alimentar)	4
É a quantidade de toxina que deve ser ingerida para que o comensal manifeste a intoxicação. É expressa geralmente em µg (microgramas). Contudo, na maioria dos Surtos de DTA esse valor é difícil de ser determinado. Nota: • Observe que o número de microrganismos da dose infectante não é expresso em ufc/g ou ufc/mL, isto porque as quantidades de alimentos ou água ingeridos por cada comensal são diferentes. • A dose infectante depende de inúmeros fatores relacionados ao comensal, como por exemplo a idade, estado imune, estado nutricional e doenças crônicas pré-existentes. • Como regra, em comensais nos extremos etários, imunodeprimidos ou desnutridos a dose infectante é menor que em indivíduos sãos.	

Toxinfecção	5
Termo usado no passado para se referir às DTAs bacterianas, isto porque as mais frequentes apresentavam uma patogenia de intoxicação ou infecção. Com isso, a junção desses dois termos (intoxicação e infecção) deu origem ao termo toxinfecção. Nota: • Alguns autores colocam que o termo toxinfecção se refere às doenças onde o agente que causa a infecção produz também uma toxina (ex.: botulismo alimentar, cólera). Essa referência é equivocada, pois ignora a origem histórica do termo nas DTAs bacterianas. Além disso, faria com que “todas” as infecções fossem classificadas como toxinfecções pois na sua patogenia das infecções existe a produção de toxinas, por exemplo: ➤ A shigelose é uma infecção típica, mas no curso da infecção as bactérias produzem a Toxina de Shiga. ➤ As amostras de <i>Escherichia coli</i> Enterotoxigênicas (ETEC) causam uma infecção típica, mas podem no curso da infecção produzir toxinas termolábil (LT) e termoestável e ST).	

Surto de Doença Transmitida por Água e Alimentos (DTA)	6
Quando duas ou mais pessoas apresentam uma sintomatologia semelhante após o consumo de um alimento comum e a análise epidemiológica e/ou a análise microbiológica, implica o alimento como causa da doença. No caso de botulismo alimentar um único caso pode ser considerado como surto. Nota: • Como as DTAs ocorrem frequentemente em serviços de alimentação coletiva, elas se apresentam na forma de surto. Deste modo, muitas vezes o termo DTA é usado para se referir a um Surto de DTA. • O botulismo alimentar possui características epidemiológicas muitas vezes diferenciadas em relação a outras DTAs, principalmente quando envolve o consumo de alimentos enlatados/enfrascados, cujo consumo ocorre durante o período de validade do alimento e que são distribuídos por diferentes regiões geográficas.	
Taxa de Ataque do Surto	7
Percentual de indivíduos que apresentaram a DTA no surto.	
Taxa de Ataque dos Alimentos do Surto	8
Percentual de indivíduos que apresentaram a DTA no surto e que consumiram cada item do cardápio.	
Período de Incubação	9
Intervalo de tempo entre o consumo do alimento suspeito de causar o Surto de DTA e o início do aparecimento dos sinais e sintomas específicos da doença. Geralmente é expresso em minutos (até 30), horas (até 23), dias até 6) e semanas.	
Período de Estado	10
Período de tempo em que os sinais e sintomas específicos da DTA persistem. Geralmente é expresso em dias ou semanas.	

Sinais e Sintomas Específicos da DTA	11
São os sinais e sintomas apresentados no curso da doença que podem ser diretamente correlacionados com a ação patogênica do agente causal. Nota: • Sinal: manifestação clínica que pode ser detectada no exame clínico do paciente. • Sintoma: manifestação clínica sentida pelo paciente. • Relação com a ação patogênica do agente causal: ➤ O enteropatógeno shigela faz invasão intraepitelial nas células do intestino grosso, levando a destruição da mucosa e formação de microulcerações visíveis no exame proctológico. ➤ A toxina botulínica causa paralisia flácida dos músculos oculares, não existindo a sincronização da visão do olho direito e esquerdo, levando a diplopia (visão dupla).	
Investigação Epidemiológica do Surto de DTA	12
Metodologia de obtenção de dados referentes a um surto de DTA baseada na entrevista de comensais, doentes e sãos, que consumiram o alimento suspeito de envolvimento no surto.	
Investigação Laboratorial (“Microbiológica”) do Surto de DTA	13
Análise(s) laboratorial(is) destinada(s) a identificar o agente causal do surto. Pode abranger a análise do(s) alimento(s) suspeito(s) de envolvimento direto no surto, de alimentos ainda na fase de pré-preparo e de suas matérias primas (Análise Microbiológica; Pesquisa de toxinas; Pesquisa de histamina) e de espécimes clínicos dos doentes e manipuladores de alimentos.	

Achado Laboratorial (“Microbiológica”)	14
---	-----------

Situação onde a **análise laboratorial identifica uma bactéria cujas características da DTA não correspondem aos dados obtidos na investigação epidemiológica.**

Por exemplo, na análise microbiológica do suspeito do surto foi isolada uma bactéria que causa tipicamente uma Intoxicação Alimentar envolvendo toxina emética (*Staphylococcus aureus*; *Bacillus cereus* Emético) – isto implica em um quadro com as seguintes características:

- Período de Incubação curto (30 minutos a 6 horas);
- Principais sinais e sintomas do paciente e prevalentes entre os doentes são náuseas e vômitos. Além disso, os doentes não apresentam Febre;
- Período de Estado de 1 a 2 dias;
- Hospitalização não é necessária quando o surto envolve adultos sãos.

Contudo, a análise epidemiológica evidenciou um quadro típico de Infecção Alimentar onde os dados dos pacientes evidenciaram:

- Período de Incubação longo (2 a 3 dias);
- Principais sinais e sintomas do paciente e prevalentes entre os doentes foram: Febre, diarreia e dor abdominal;
- Período de Estado de 1 a 2 semanas;
- Taxa de Hospitalização: 8 % (todos adultos jovens).

Este caso mostra claramente que a bactéria isolada do alimento suspeito, mesmo sendo um Patógeno Específico de DTA, não apresentava relação com o Surto de DTA. Cabe lembrar sempre que análises laboratoriais estão sempre sujeitas a resultados falso-negativos e falso-positivos.

Capítulo 8**Termos Médicos Comumente Usados em DTAs****Etiologia**

Estudo das causas das doenças. Aponta o agente etiológico das doenças.

Pródromos

São sinais e sintomas que antecedem o quadro clínico típico da doença.

Patogenia ou Patogênese

Modo como o agente etiológico da doença agride o hospedeiro e como se apresentam as lesões teciduais, modificações fisiológicas celulares e teciduais alvos dessa agressão.

Patologia

Estudo das alterações estruturais, bioquímicas e funcionais nas células, tecidos e órgãos, com objetivo de explicar os mecanismos pelos quais surgem os sinais e sintomas das doenças.

Sintomatologia

Estudo e interpretação do conjunto de sinais e sintomas observados no curso da doença.

Epidemiologia

Estudo das doenças e seus fatores determinantes na população, abrangendo também as medidas específicas de prevenção e controle.

Fator de Risco

Característica, condição ou comportamento que aumenta a probabilidade de se ter uma doença.

Incidência

Número de casos novos de uma doença em uma população num intervalo de tempo.

Prevalência

Número de casos existentes (já diagnosticados mais os novos) de uma doença em uma população num intervalo de tempo.

Profilaxia

Medidas utilizadas para impedir ou diminuir o risco de transmissão de uma doença.

Prognóstico

Previsão de como uma doença evoluirá em cada paciente.

Taxa de Mortalidade

Número de mortes por uma doença em uma população (geralmente, por cada 1.000 habitantes) em um determinado período de tempo (geralmente, um ano).

Taxa de Letalidade

Número de mortes por uma doença em relação às pessoas que apresentam a doença.

Não subestime o significado desses termos. É importante compreender e saber como aplicar corretamente cada um deles. Muitas vezes, equivocadamente, o seu significado pode aparentemente ser igual, ou então, muitas vezes, esses termos são usados como sinónimos. Observe as situações abaixo para ver as diferenças do significado e aplicação desses termos:

“A Taxa de Mortalidade do surto foi de 2 %.”

Esse equívoco é muito frequente, confundir a **Taxa de Letalidade** com a **Taxa de Mortalidade**. Por que esse equívoco é facilmente percebido? Porque a **Taxa de Mortalidade** vem sempre acompanhado **período de tempo** e o **tamanho da população estudada**. Uma forma correta seria “A Taxa de Mortalidade foi de 2 para cada 1.000 habitantes no ano de 2022”, ou de forma mais simples: **“A Taxa de Mortalidade foi de 2 ‰ habitantes no ano de 2022”**.

Caso esse valor (2 %) fosse da **Taxa de Letalidade** ele indicaria que **2 indivíduos foram a óbito de cada 100 indivíduos que apresentaram a doença**.

“A Incidência da doença foi 50 casos da doença para uma população de 100 habitantes no ano de 2022.”

X

“A Prevalência da doença foi 50 casos da doença para uma população de 100 habitantes no ano de 2022.”

A primeira afirmação (**Incidência**) indica que no ano de 2022 foram diagnosticados **50 casos novos da doença**, não importando os casos diagnosticados em anos anteriores. Já a segunda afirmação (**Prevalência**) indica que no ano de 2022 existiam **50 doentes, sendo que o seu diagnóstico pode ter sido feito no ano de 2022, e somado com os doentes já diagnosticados em anos anteriores**. Essas **Medidas de Frequência** são muito utilizadas em **Estudos Transversais e Estudos de Coorte**. Veja o quadro abaixo:

Ano de 2021	Ano de 2022
População: 100 indivíduos	População: 95 indivíduos (+ 5 doentes)
Adoeceram neste ano: 5 indivíduos	Adoeceram neste ano: 5 indivíduos

Em um **Estudo Transversal**, a **Incidência** da doença em 2021 é de **5 %** (5 em 100 indivíduos), e em 2022, a Incidência da doença é de **5,3 %** (5 em 95 indivíduos). Veja que os % de **Incidência** foram diferentes pois em 2022 **só existiam 95 indivíduos sãos** na população.

Em um **Estudo de Coorte**, ou seja, o ano de 2022 é o acompanhamento da doença que começou a ser estudada em 2021 temos: Em 2021 a **Incidência era de 5%** e caso a doença inexistisse na população estudada a **Prevalência também seria 5 %** (seria um dado desnecessário). Já em 2022, a **Incidência foi de 5,3 %** e a **Prevalência seria de 10 %** (5 doentes de 2021 + 5 doentes de 2022).

“A imunodeficiência é um Fator de Risco para as salmoneloses”.

Essa afirmação pode ser vista aparentemente como correta. A análise criteriosa dessa afirmação permite concluir que **ela poderia ser feita para qualquer doença infecciosa. Desse modo, ela perde completamente a sua relevância por sua subjetividade.**

Agora um exemplo bem objetivo:

“A imunodeficiência é um fator de risco para a listeriose.”

Nesse caso existe uma explicação que subsidia a afirmação. O agente causal da listeriose (*Listeria monocytogenes*) é um parasito intracelular facultativo que pode até infectar indivíduos sãos, mas causando quadros localizados no intestino. Caso o indivíduo apresente um quadro de imunodeficiência, como por exemplo, uma mulher grávida que possui um estado de imunossupressão fisiológico para aceitação de diferenças imunológicas com o conceito, a doença será sistêmica.

Capítulo 9

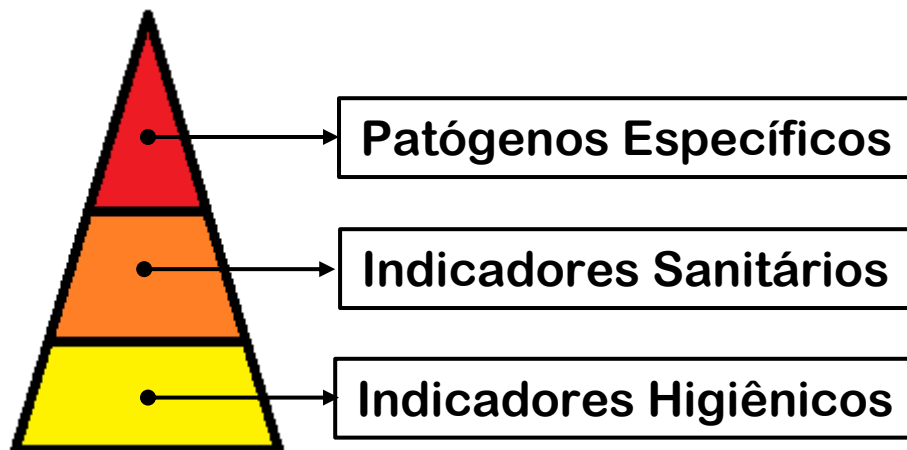
Microrganismos Indicadores Higiênico-Sanitários e Patógenos Específicos em Alimentos

Microrganismos Indicadores são grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, **podem “indicar”** sobre a **deterioração potencial do alimento**, a ocorrência de **contaminação de origem fecal e outras condições sanitárias inadequadas** e sobre a **possível presença de patógenos**.

Esses microrganismos, junto com análises de **Patógenos Específicos**, fazem parte dos parâmetros analíticos que são empregados nas **Análises Microbiológicas de Alimentos**, estando presentes na legislação vigente ou nas rotinas de Controle de Qualidade internas das empresas. Os **Patógenos Específicos** seriam representados por agentes causais de **Doenças Transmitidas por Água e Alimentos**.

Em uma visão bem simplificada poderíamos representar a importância dessas bactérias nos alimentos pelo gráfico abaixo:

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



Na realidade esta forma de visão dos microrganismos como de risco a saúde e qualidade dos alimentos faz parte das principais normas sobre Planos de Amostragem são estabelecidas pela “*International Commission on Microbiological Specification for Foods*” (ICMSF). Com base na classificação desses microrganismos são definidas diferentes variáveis como o tamanho da amostra a ser analisada, os limites microbiológicos aceitáveis/inaceitáveis e as classes dos planos de amostragem. Essas definições são empregadas na legislação e em rotinas de Controle de Qualidade internas das empresas.

Essas normas são atualizadas periodicamente e a terminologia têm sofrido algumas modificações. No quadro a seguir são mostradas as duas classificações mais recentes da ICMSF. A ICMSF 1986 foi citada porque ainda é comum encontrar referências a ela. Contudo, é importante destacar que a legislação sobre qualidade microbiológica de alimentos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Resolução RDC 724 / Instrução Normativa 161 – 2022) já emprega a norma mais atual.

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

CATEGORIA		DESCRIÇÃO
ICMSF - 1986	ICMSF - 2011	
Ausência de risco direto à saúde	Utilidade	Deteriorantes, Reduzem a “ <i>shelf life</i> ”, sem preocupação com a saúde
Risco baixo para a saúde, indireto	Indicador, perigo baixo e indireto	Estima as Boas Práticas de Higiene (GHP)
Risco moderado à saúde, difusão limitada	Perigo Moderado	Não ocorre risco de morte, duração curta, não deixa sequelas
Risco moderado à saúde, difusão extensa	Perigo grave	Incapacitante, mas geralmente não fatal; raras sequelas, duração moderada
Risco severo e direto	Perigo severo	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*
Utilidade		Contagem de Aeróbios Mesófilos; Contagem de Bolores e Leveduras
Indicador, perigo baixo e indireto		Contagem de Enterobacteriaceae; Contagem de <i>Escherichia coli</i> genérica; Contagem de coliformes totais**
Perigo Moderado		Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva; Contagem de <i>Bacillus cereus</i> presuntivo; Contagem de <i>Clostridium perfringens</i> ; Contagem de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> **
Perigo grave		Pesquisa de <i>Salmonella</i> ; Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>
Perigo severo	População em geral	Pesquisa de <i>Escherichia coli</i> O157:H7; Pesquisa da neurotoxina botulínica***
	População suscetíveis	Pesquisa de <i>Cronobacter</i> spp; Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>

* Na RDC 724 / IN 161 – 2022 existe referência a Enterotoxina Estafilocócica e a Histamina, mas estes parâmetros analíticos não são citados na ICMSF; por aproximação poderiam ser da categoria Perigo Moderado.

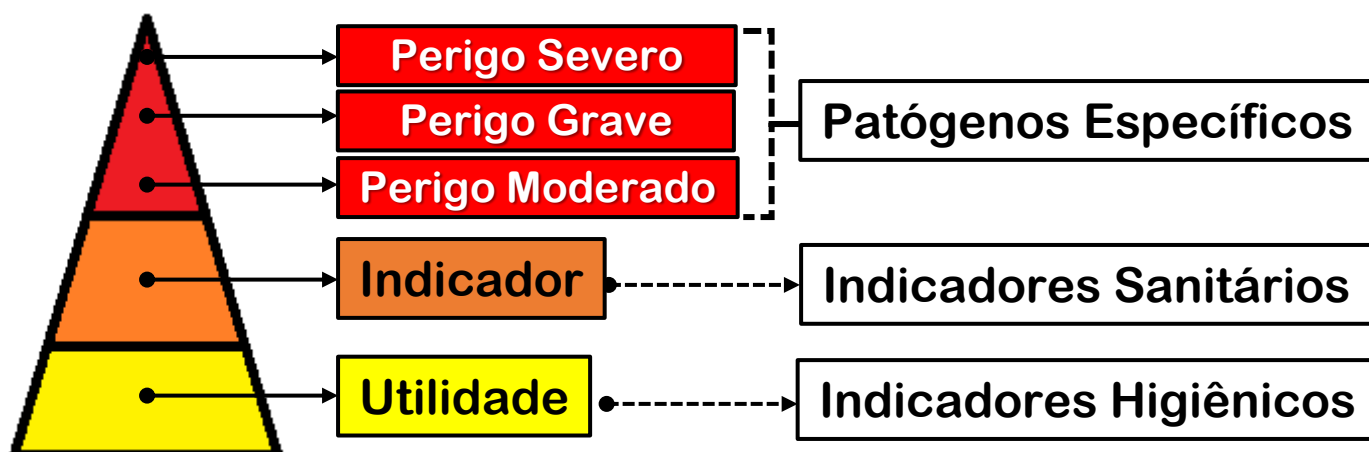
** Contagem de coliformes totais – existe somente para Águas Envasadas.

*** Contagem de *Vibrio parahaemolyticus* e Pesquisa da neurotoxina botulínica são citados na ICMSF, e citados indiretamente em documentos referentes na RDC 724 / IN 161 – 2022.

Os parâmetros analíticos citados no Quadro 2 foram associados a ICMSF 2011 / RDC 724 / IN 161 – 2022. Contudo, em situações específicas, esta lista pode ser alterada principalmente no caso de rotinas de Controle de Qualidade internas das empresas. Por exemplo, no caso de Perigos da categoria Utilidade podem ser empregadas: Contagem de Bactérias Psicrotróficas, Contagem de Bactérias Fermentadoras, Contagem de Bactérias Proteolíticas, Contagem de Bactérias Lipolíticas, entre outras. Do mesmo modo, “Perigos” como *Vibrio cholerae*, *Campylobacter* sp, *Clostridium perfringens* C e outros também podem ser incluídos.

Voltando a Figura 1, as categorias citadas poderiam ser mescladas com as da ICMSF – 2011, como apresentado na Figura 2.

Figura 2- Categorias ICMSF (2011) e usuais de Microrganismos de Importância em alimentos



Capítulo 10

Alimentos Estéreis,
Comercialmente Estéreis e Ultrapasteurizados.

Inicialmente ressaltamos que esse tema será com duas abordagens distintas. A primeira com uma visão básica de Microbiologia desses processos, sendo feitas referências genéricas a “Tecnologia de Alimentos” onde este tema é estudado em profundidade, ou seja sem entrar em conceitos como “Curva de Sobrevivência Térmica”, “Curva de Destruição Térmica”, “Valor D”, “Valor Z”, “Conceito 12 D” e outros de uso comum em termobacteriologia. A segunda abordagem será de como a legislação vigente classifica esses alimentos e quais as suas especificações de qualidade.

Os processos aos quais esses alimentos são submetidos são altamente tecnológicos e estão em constantemente aprimoramento. Com isso, muitas vezes, existe um descompasso entre a visão teórica e os alimentos produzidos. Mas, em linhas gerais serão apresentados os referenciais teóricos sobre o tema.

Visão Microbiológica dos Métodos de Conservação Empregando Calor:

A susceptibilidade dos microrganismos ao calor é resumida na Figura 1.

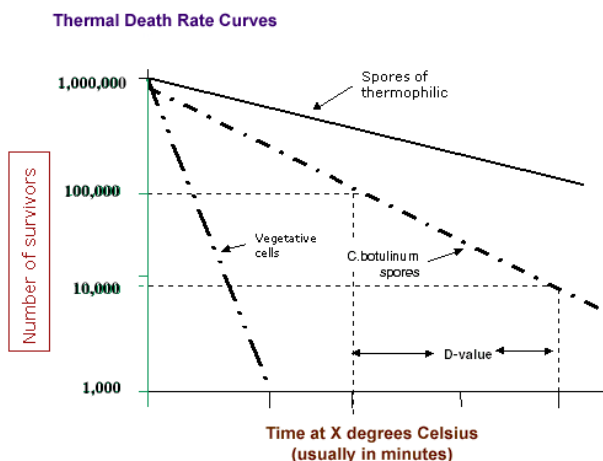
Figura 1- Ação do Calor sobre os Diferentes Tipos de Microrganismos.

Intensidade do Calor				
Protozoários, Fungos, Algas*	Formas Vegetativas das Bactérias	Formas Esporuladas de Bactérias		
		Psicrotróficas	Mesófilas	Termófilas

* vírus podem ser incluídos neste grupo, apesar da discussão se são ou não organismos vivos.

A “**Intensidade do Calor**” deve ser interpretada como o resultado do **binômio Temperatura-Tempo**. Além disso, deve ser observado que **a morte dos microrganismos não é um evento instantâneo**. Ela é previsível matematicamente, como pode ser visto no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Curva de Morte Térmica de Diferentes Tipos de Microrganismos.



Pode ser observado nesse gráfico que **o tempo necessário para eliminação dos microrganismos varia em função do tamanho da população bacteriana e do tipo de microrganismo**. Além disso pode ser concluído que:

- **Quanto maior a População Bacteriana maior o tempo para sua eliminação;**
- **Endósporos são mais resistentes que formas vegetativas;**
- **Endósporos de termófilos são mais resistentes que esporos de *Clostridium botulinum*, uma bactéria tipicamente mesófila.**

Observe que o autor do gráfico colocou intencionalmente os esporos de *Clostridium botulinum* em função da sua importância em Doenças Transmitidas por Alimentos relacionados a enlatados/enfrascados.

De modo objetivo, temos que ter em mente que **temperaturas de 60-70°C por alguns minutos, como empegado na pasteurização (LTLT e HTST) elimina grande parte das bactérias na forma vegetativa**, restando apenas as Termodúricas. **Já a temperatura de água em ebulição (100 °C) por cerca de 10 minutos elimina todas as formas vegetativas de bactérias, não eliminando os endósporos.**

Para eliminação dos **endósporos, de mesófilos ou de termófilos, a água em ebulição necessita de horas**. Para redução deste tempo para minutos é necessário o emprego de temperaturas superiores a 100 °C, como por exemplo as utilizadas em equipamentos do tipo autoclave (calor úmido sob pressão).

Pelo exposto até o momento fica claro que o “Calor” é um eficiente agente de controle de microrganismos. O uso calor úmido sobre pressão, por sua elevada eficácia sobre formas esporuladas permitiu o desenvolvimento de processos de “**Esterilização**”.

Conceitualmente, **Esterilização** é a ação de tornar estéril e **Estéril**: ausência completa de microrganismos viáveis. Observe que o termo **Estéril** possui um significado absoluto e que não permite qualquer flexibilização (quase estéril, parcialmente estéril...).

No laboratório, os processos de esterilização em geral empregam o calor úmido sob pressão. Como referência **genérica** são citadas especificações 121 °C por 15 minutos para autoclaves convencionais, e 132-135 °C por 3-4 minutos para autoclaves de pré-vácuo. Ressaltamos que estas especificações são meramente genéricas, pois na prática o tempo do processo deve variar em função do volume individual e da carga microbiana do material a ser esterilizado. Como pode ser observado o tempo do processo das autoclaves de pré-vácuo é bem inferior ao das autoclaves gravitacionais. Isto se deve a eliminação “total” do ar do interior da autoclave. Como esse atua como um isolante térmico sua eliminação aumenta a eficiência do processo de esterilização nas autoclaves de pré-vácuo permitindo a redução do tempo.

Os dados sobre a eficácia dos processos de esterilização são geralmente obtidos por experimentos com culturas bacterianas crescidas em meios de cultivo. Muitas vezes, quando esses testes são feitos com bactérias misturadas com alimentos os resultados são diferentes.

Isto porque a eliminação dos microrganismos em alimentos é influenciada por inúmeros fatores, como a composição (teor de proteínas, teor de lipídeos, ...), o pH, a concentração de solutos osmoticamente ativos e a presença de substâncias antimicrobianas naturais (constitutivas do alimento).

Em virtude dessas diferentes variáveis, a determinação da “**Intensidade do Calor**” necessária para eliminação dos microrganismos em alimentos é muito complexa. Isto pode ser observado na Tabela 1 onde são apresentados dados da resistência térmica de esporos de *Bacillus subtilis* em diferentes valores de pH (esta espécie bacteriana é muito empregada em experimentos de termobacteriologia, não tem relevância em DTAs mas pode estar envolvido na deterioração de alimentos).

Tabela 1 - Efeito do pH na Resistência Térmica de Esporos de *Bacillus subtilis*

pH	Tempo de Sobrevivência dos Microrganismos (min)
4,4	2
5,6	7
6,8	11
7,6	11
8,4	9

Pode ser observado nessa tabela que o pH ácido reduz consideravelmente o tempo de sobrevivência dos esporos do *Bacillus subtilis*, já o pH alcalino não influencia de forma tão expressiva.

Essa observação que o pH ácido contribui para a redução do tempo de sobrevivência dos endósporos é muito importante para o processamento térmico de alimentos. Se um alimento que possui um pH próximo da neutralidade for acidificado é previsível que o tempo do processo de esterilização será menor. O mesmo ocorre com outros fatores já citados (composição, osmolaridade, ...). Esses fatores, além de contribuir para a eliminação de microrganismos também influenciam negativamente nos processos de germinação de endósporos e na sobrevivência/multiplicação de formas vegetativas.

Com base nessas premissas foi desenvolvido um processo, **empregado somente em alimentos**, denominado “**Esterilização Comercial**”. Este processo, que emprega uma **Intensidade de Calor** (Temperatura e Tempo) menor que os processos de esterilização, possibilitando que os alimentos conservem melhor suas propriedades sensoriais (textura, aparência,) e nutricionais. Além disso, prioritariamente esse processo objetiva que o alimento esterilizado comercialmente seja estável a nas condições de armazenamento (“**Estáveis a Temperatura Ambiente**”). Muitas vezes os testes para definição do binômio Tempo/Temperatura desse processo são realizados com esporos de *Clostridium botulinum*, que do ponto de vista prático **seria o mais importante a ser eliminado por sua associação com o botulismo alimentar**.

Cabe lembrar que nos processos de **Esterilização** em autoclave utilizam esporos de bactérias termófilas (*Geobacillus stearothermophilus*) como indicadores de eficácia. Essa bactéria foi selecionada por sua elevada termorresistência, e não é capaz de causar DTA. Contudo, frequentemente está envolvida em deterioração “**flat-sour**” de alimentos enlatados de baixa acidez. Nessa deterioração, a bactéria faz fermentação de carboidratos com a produção de

ácidos graxos de cadeia curta, acidificando levemente os alimentos, mas não existe produção de gás e consequentemente as bordas da lata do alimento permanecem “planas” não apresentando estufamento (“flat-sour”: “azedo-plana”).

Um outro processamento térmico de alimentos muito eficiente na eliminação de microrganismos é a **Ultrapasteurização (UHT – Ultra High Temperature)**. Este processo é realizado por equipamentos específicos e emprega o aquecimento do alimento a 130-150 °C por 2 a 4 segundos. Inicialmente empregado no leite, deu origem ao produto conhecido como “Leite Longa Vida”. Nesse processo o alimento é aquecido, envasado assepticamente em embalagens herméticas e que se mantêm “**Estáveis a Temperatura Ambiente**”. No caso do leite não são empregadas medidas complementares (ex.: acidificação) e o alimento não possui conservadores naturais (é um produto altamente perecível).

No Quadro 1 é feita uma comparação **teórica** dos resultados microbiológicos dos Processos de **Esterilização** e **Esterilização Comercial** e da **Ultrapasteurização**:

Quadro 1 - Comparação teórica dos resultados da **Esterilização** e **Esterilização Comercial**.

Eficácia na Eliminação Total de:	Esterilização	Esterilização Comercial	Ultrapasteurização
Bactérias na forma vegetativa	sim	sim	sim
Esporos de bactérias mesófilas	sim	sim	não*
Esporos de bactérias termófilas	sim	Se presentes possivelmente não	Se presentes possivelmente não

* afirmação baseada na Portaria 370 de 1997 do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) que especifica que o leite UHT pode ter até 100 ufc de “aeróbios mesófilos” por mililitro.

No Leite UHT é importante observar que, eventualmente, pode ser detectada a presença de esporos viáveis de **bactérias mesófilas**. O principal microrganismo encontrado é ***Bacillus sporothermodurans***, um microrganismo **mesófilo**, aeróbio estrito e não fermentador de açúcares. Aparentemente essa bactéria é introduzida no leite a partir de fontes ambientais, que também podem estar contaminando o úbere das vacas.

Os esporos de ***Bacillus sporothermodurans*** são considerados **HHRS (“Highly Heat-Resistant Spores” = Esporos Altamente Resistentes ao Calor)**. Apesar das formas vegetativas crescerem no leite, elas **não determinam alterações nas suas características sensoriais ou físico-químicas, bem como essa bactéria não é capaz de causar DTA**. Ou seja, sua presença não leva a deterioração ou envolvimento do alimento em DTA, não comprometendo a sua Segurança Alimentar. **Isto é extremamente relevante para a metodologia de “Contagem de Aeróbios Mesófilos” do MAPA empregada na análise de leite UHT, que recomenda que as contagens de colônias dessa bactéria na análise de “Contagem de Aeróbios Mesófilos” sejam desconsideradas.**

Apesar dos processos **Esterilização, Esterilização Comercial** e **Ultrapasteurização** possuírem características microbiológicas distintas todos são aplicados a alimento produzidos em **embalagens herméticas** e que **são Estáveis a Temperatura Ambiente**.

Visão da Legislação sobre os Métodos de Esterilização de Alimentos Calor:

A visão microbiológica dos alimentos esterilizados, esterilizados comercialmente e ultrapasteurizados é bastante complexa, e na prática não teria sentido fazer sua aplicação na legislação de qualidade microbiológica de alimentos. Isto porque teriam que ser estabelecidos Parâmetros Analíticos e/ou Especificações de Qualidade diferentes para cada um desses alimentos. Deste modo, como o **foco da legislação é a Segurança Alimentar** e a principal característica a ser avaliada desses alimentos é serem **Estáveis a Temperatura Ambiente**.

A Resolução RDC Nº 724 – 2022 dispõe que os padrões microbiológicos dos alimentos são definidos pela Instrução Normativa (IN) - Nº 161 de 2022. Nessa IN, no artigo 2º são apresentadas algumas definições relacionadas direta ou indiretamente com alimentos comercialmente estéreis. Essas foram transcritas abaixo:

Art. 2º Para fins desta Instrução Normativa são adotadas as seguintes definições:

I - alimento comercialmente estéril: alimento **com atividade de água acima de 0,85**, exceto bebidas alcoólicas, **não adicionado de conservadores**, exceto carnes curadas enlatadas, submetido a esterilidade comercial e **acondicionado em embalagem hermética, estável à temperatura ambiente**;

II - alimento estável à temperatura ambiente: alimento que, devido à sua natureza, mantém a segurança e características originais, mesmo quando armazenado em temperatura ambiente, desde que a integridade da embalagem seja mantida;

VII - esterilidade comercial: condição atingida por aplicação de calor suficiente, isolado ou em combinação com outros tratamentos apropriados ou tecnologia equivalente, para **tornar o alimento isento de micro-organismos capazes de se reproduzir em condição ambiente de armazenamento e distribuição do produto**;

IX - ultra alta temperatura (UAT) ou ultra high temperature (UHT): **processo utilizado para esterilização comercial de alimentos** por meio do aquecimento a temperaturas elevadas e, imediatamente, do resfriamento.

Continuando a leitura da IN, no artigo 5º está indicado que **alimentos comercialmente estéreis, incluindo o leite e seus derivados UAT (UHT), fórmulas infantis líquidas comercialmente estéreis e as fórmulas enterais líquidas comercialmente estéreis possuem especificações de qualidade estabelecidas no Anexo III** desta Instrução Normativa (copiada a seguir).

ANEXO III
PADRÃO MICROBIOLÓGICO PARA ALIMENTOS COMERCIALMENTE ESTÉREIS

Categorias específicas	Critério de Aceitação
a) Alimentos de baixa acidez (pH maior que 4,5)	O alimento não deve apresentar sinais de alterações que indiquem a presença de micro-organismos capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição. Quando houver alteração, o resultado deve ser interpretado como Insatisfatório com Qualidade Inaceitável.
b) Alimentos ácidos ou acidificados (pH menor que 4,5)	
c) Leite UAT (UHT) e produtos à base de leite UAT/UHT em embalagens herméticas	
d) Fórmulas infantis, incluindo fórmulas infantis para lactentes, fórmulas infantis de seguimento para lactentes e crianças de primeira infância e fórmulas infantis destinadas a necessidades dietoterápicas específicas, líquidas, estéreis, em embalagens herméticas, estáveis à temperatura ambiente	
e) Fórmulas padrão para nutrição enteral, fórmulas modificadas para nutrição enteral e módulos para nutrição enteral, líquidos, estéreis, em embalagens herméticas, estáveis à temperatura ambiente	

Observe que, como anteriormente comentado, a especificação de qualidade (“Critério de Aceitação”) é que **os alimentos comercialmente estéreis devem apresentar estabilidade à temperatura ambiente**.

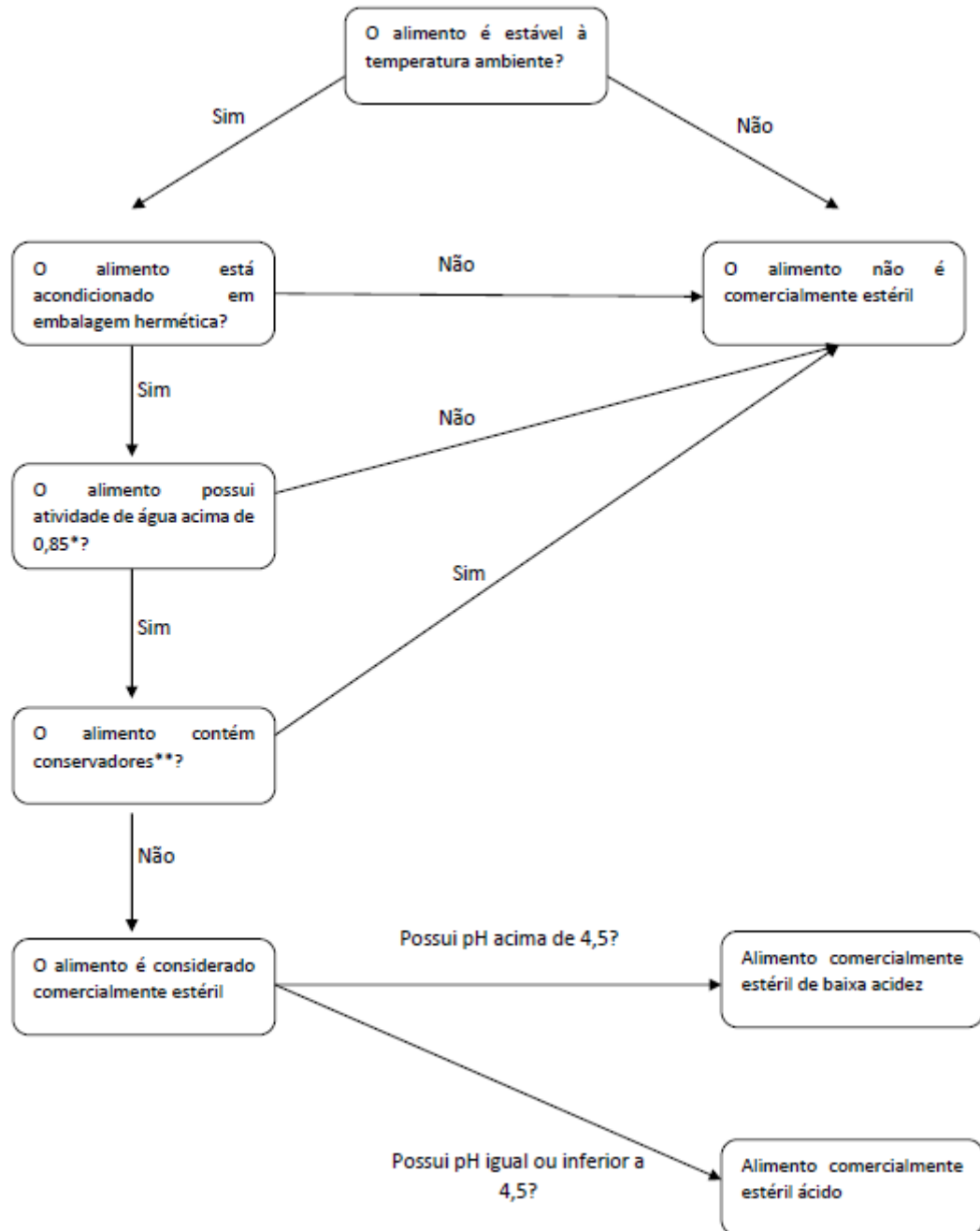
Importante observar também que a IN - Nº 161, e outros documentos complementares da ANVISA, estabelecem que os alimentos comercialmente estéreis **não devem ser adicionados de conservadores, além de ácidos, ou outros agentes inibitórios, exceto carnes curadas enlatadas adicionados de sais de cura**. Ou seja, de modo geral a **estabilidade desses produtos não é dependente de conservadores ou outros agentes inibitórios, além de ácidos**.

Uma referência da IN - Nº 161 importante é a classificação em **Alimentos de baixa acidez** (pH > 4,5) e **Alimentos ácidos ou acidificados** (pH ≤ 4,5). Esta divisão tem como base o valor do pH para que exista a produção da neurotoxina botulínica (**em valores abaixo de 4,5 não existe a produção da neurotoxina**). Como exemplos dessas categorias de alimentos outros documentos da ANVISA citam:

- **Alimentos comercialmente estéreis de baixa acidez** (pH > 4,5): derivados de carne (salsichas em lata, almôndegas em lata, patês de fígado ou presunto em lata ou vidro), derivados de peixes (sardinha em lata, atum em lata), derivados de leite (leite longa vida, leite evaporado, creme de leite em lata, garrafa ou cartonado), vegetais em lata, vidro, cartonado ou laminado (ervilha, milho, seleta de legumes, leite de soja) e preparações (feijoada em lata, sopas em lata);
- **Alimentos comercialmente estéreis ácidos** (pH ≤ a 4,5): derivados de tomate, os vegetais acidificados (palmito, picles, azeitonas), as frutas em calda (figos, pêssegos, abacaxi), os sucos de frutas e misturas (bebidas de soja com frutas ou leite com frutas).

Documentos auxiliares da **ANVISA** mostram um fluxograma decisório para determinar se um alimento é ou não comercialmente estéril:

Figura 2 – Fluxograma decisório para identificação de alimentos comercialmente estéreis.



Capítulo 11

Termos e Conceitos Aplicados a Microrganismos Patogênicos

“*Pathos*” (prefixo) e “*patia*” (sufixo)

O significado desses termos remete a sofrimento, doença ou afecção.

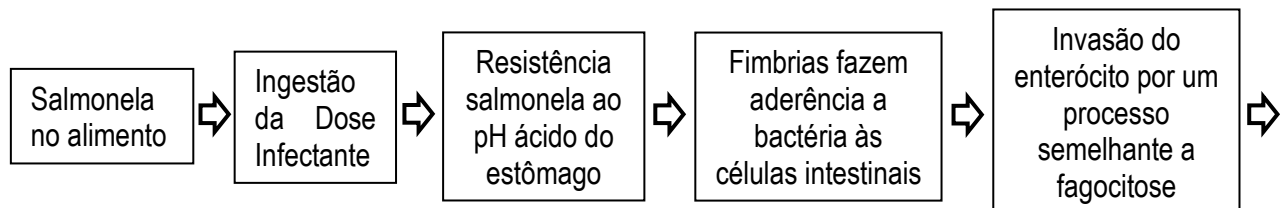
O prefixo “***pathos***” é de origem grega esta presente em inúmeros termos utilizados na área médica, como: **paciente**, **patogenia**, **patogênese**, **patologia**, **patogênico**, etc.

O sufixo “***patia***” também é muito comum, estado presente em termos como: **cardiopatia**, **neuropatia**, **nefropatia**, **miopatia**, etc.

Patogenia ou Patogênese

De modo literal significaria a origem da doença. Indica como o agente etiológico da doença agride o hospedeiro e causa as lesões teciduais, modificações fisiológicas celulares e teciduais alvos acometidos pela doença.

Na prática **descreve de forma sucinta como a doença se desenvolve**, por isso, **muitas vezes são empregados fluxogramas** nessa descrição, como exemplo abaixo:



Patogênico:

Em Microbiologia deve ser teoricamente entendido **como um microrganismo que é “capaz” de causar doença no hospedeiro sadio** (hígido, são, sem comprometimento). É um microrganismo que “**geralmente**” e “**frequentemente**” está associado a processos infecciosos.

Para entendimento do uso do “geralmente” e “frequentemente” no conceito poderíamos afirmar que a bactéria patogênica seria **geralmente** encontrada em espécimes clínicos oriundo de processos infecciosos e **comumente** estaria associada a **doença específicas**, por exemplo, no caso de um furúnculo é esperado que o agente etiológico seja ***Staphylococcus aureus***, em um caso de difteria é esperada a presença de ***Corynebacterium diphtheriae***. Deve ser ressaltado que os exemplos citados são de **doenças específicas** (possuem um agente etiológico único), contudo existem quadros onde diferentes agentes podem ser os causadores, por exemplo em uma infecção urinária em mulheres jovens podemos ter ***Escherichia coli*** como um dos agentes mais frequentes (85 %), mas outros agentes podem estar envolvidos, como ***S. saprophyticus***, ***Enterococcus faecalis***, espécies dos gêneros ***Klebsiella*** e ***Proteus***. O mesmo raciocínio se aplica a quadros de meningite, encefalite, pneumonia, conjuntivite, artrite, sepse e outros (quadros muitas vezes chamados de Síndromes Clínicas).

Patogenicidade:

Palavra formada por “**pathos**” que indica doença, e “**genos**” que indica geração. Com isso, o termo patogenicidade indica **capacidade de causar doença**.

A **patogenicidade** de uma bactéria está, em geral, associada a presença de **Mecanismos de Patogenicidade**. Esses mecanismos seriam os “fatores” que a bactéria dispõe para causar doença. Em alguns patógenos esses fatores podem ser facilmente identificados na patogenia da doença, por exemplo:

- **Produção de toxina:** amostras das espécies *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum* e *Corynebacterium diphtheriae* são exemplos de bactérias cuja patogenicidade está diretamente relacionada a produção de toxinas. Com isso, amostras toxigênicas causam a tipicamente a doença e as amostras não produtoras da toxina não causariam a doença.
- **Invasão de células:** amostras dos gêneros *Salmonella* e *Shigella*, na infecção intestinal, fazem aderência aos enterócitos e, imediatamente após, invadem essas células. Isso permite que a bactéria se multiplique dentro do enterócito – **Invasão Intraepitelial** (ex.: *Shigella*) ou atravesse o epitélio, atinja a submucosa intestinal e faça disseminação linfo-hematogênica para outros órgãos e tecidos do hospedeiro – **Invasão transepitelial** (ex.: *Salmonella*).

Observe que a maioria dos **Mecanismos de Patogenicidade** são codificados geneticamente, ou seja, não é uma propriedade da espécie, mas sim de algumas amostras da espécie. Por exemplo, a espécie *V. cholerae* possui mais de 200 sorogrupos. Contudo, só existem amostras produtoras da toxina colérica nos sorogrupos **O1** e **O139**, ou seja, que possuem o **gene ctx** que codifica a produção da toxina colérica. Deste modo, só esses sorogrupos estão relacionados como causa da cólera epidêmica. Nessas amostras, não é só a produção da toxina colérica que possibilitará a bactéria a causar doença, outros Mecanismos de Patogenicidade são também necessários. Por exemplo o pili TCP (**Toxin-Coregulated Pili**), esse promove a aderência específica da bactéria ao enterócito, e essa ligação regula a transcrição do gene *ctx*, e consequentemente a produção da toxina colérica. Ou seja, é necessário que esses dois fatores atuem conjuntamente para que a bactéria cause doença.

Saprófita:

Em Microbiologia deve ser entendido, teoricamente, **como um microrganismo que é “incapaz” de causar doença no hospedeiro sadio** (hígido, são, sem comprometimento).

Contudo, na prática como essa característica decorre da relação parasito-hospedeiro. Nada impede que um microrganismo saprófita cause doença em um hospedeiro que apresente uma condição predisponente. Observe que essa condição predisponente pode ser uma condição sistêmica como um imunocomprometimento ou uma condição local. O comprometimento sistêmico, em geral, decorre de imunossupressão (ex.: uso de medicamentos que deprimem a resposta imune) ou de imunodepressão (ex.: decorrente de neoplasias). Alterações de condições locais podem ser as mais diversas abrangendo desde a perda da integridade do epitélio (ex.: corte na pele), alterações na microbiota residente (ex.: disbiose) ou mesmo nos mecanismos de controle da microbiota (ex.: “remoção do cerume causando a otite do nadador).

Saprófitas (complemento):

Uma abordagem mais precisa para esse conceito seria o uso de “**geralmente**” e “**frequentemente**”. Desse modo, a bactéria saprófita seria **geralmente uma bactéria que não causa doença no hospedeiro sadio**, em geral pois não possui fatores de virulência que possibilitam ela de vencer as defesas do hospedeiro e causar doença, e **frequentemente não estão associadas a infecções específicas**.

Deve ser ressaltado que o uso de “geralmente” e “frequentemente” não dá um sentido absoluto a esse conceito, já indicando que podem existir exceções. Por exemplo, o *Staphylococcus epidermidis* é considerada (**geralmente**) uma bactéria saprófita e tida como a principal bactéria da microbiota da pele e de algumas mucosas, não sendo (**frequentemente**) associada a infecções.

Contudo, existem variantes genéticas dessa bactéria que são capazes de produzir “**Substâncias Poliméricas Extracelulares (EPS)**” que permitem sua aderência e formação de biofilme em superfícies de diferentes materiais (titânio, aço inoxidável, cerâmica, polietileno, ...) empregado na fabricação de dispositivos médicos para implante (cateter venoso central, válvulas cardíacas, próteses articulares, ...). Em função dessa capacidade essa bactéria é o agente causal mais comum de infecções em pacientes com implantes de biomateriais.

Fator de Virulência:

É um componente da estrutura da célula bacteriana (ex.: cápsula, pili somático) ou produzido por ela (ex.: toxina, enzimas extracelulares) que contribui para a sua patogenicidade. De uma forma geral, os Fatores de Virulência seriam os componentes que efetuariam os Mecanismos de Patogenicidade, contudo não considere que esses termos sejam sempre fáceis de serem diferenciados.

A cápsula de *Streptococcus pneumoniae* tem ação anti-fagocitária. Desse modo, as amostras que possuem esse Fator de Virulência são tipicamente patogênicas.

A enzima coagulase por amostras *Staphylococcus aureus* possui um papel importante na patogenicidade dessa bactéria, formando uma rede de fibrina ao redor das bactérias e dificultando a ação de células fagocíticas.

Virulência:

Termo usado para indicar o **grau de patogenicidade** do patógeno. Reflete a capacidade do patógeno em expressar os seus fatores de virulência. Dados epidemiológicos comumente mostram que algumas amostras bacterianas possuem uma capacidade diferenciada (aumentada) de produzir os **fatores de virulência**, e, portanto, **causam doenças mais graves**.

No passado recente era comum a **Virulência** ser avaliada no laboratório em experimentos como a **Dose Letal para 50 % (DL 50)**. Nesses, era determinada a menor quantidade do patógeno capaz de matar 50 % dos animais do experimento.

Informações Genéticas e Patogenicidade

A Patogenicidade das bactérias decorre, na maioria das vezes, da produção de substâncias e/ou de componentes estruturais pela célula bacteriana (“**Fatores de Virulência**”). A codificação desses fatores é feita em genes, do cromossoma ou de plasmídeos, e a transcrição para sua expressão depende de uma rede de sinalização, geralmente muito complexa.

De um modo sumário, existe a tendência de consideramos certas espécies bacterianas sempre como patogênicas. Mas isso não pode ser visto como regra geral, pois a patogenicidade muitas vezes depende de genes que não estão presentes em todas as amostras da espécie. Por exemplo, é comum falarmos que a doença cólera clássica é causada por *Vibrio cholerae*. Mas na verdade ela é causada por amostras de *V. cholerae* toxigênico. A capacidade de produzir toxina (e ser patogênico) depende da presença no genoma da bactéria do **gene ctx**. Esse gene só existe em amostras que sofreram “**conversão fágica ou conversão lisogênica**” da bactéria pelo bacteriófago CTX ϕ . Esse fago reconhece e se liga ao Pili TCP (**Toxin-Coregulated Pili**) e insere o seu material genético no cromossoma da bactéria. **O gene ctx está presente no DNA do fago e passa a integrar o material genético da bactéria, que se torna capaz de produzir a toxina colérica (amostra toxigênica).**

A conversão lisogênica de bactérias, tornado a amostra bacteriana em patogênica, não é um fenômeno ocasional existindo vários exemplos bem conhecidos: *Clostridium botulinum* com o gene que codifica a para produção da Toxina Botulínica, *Shigella dysenteriae* com o gene que codifica a para produção da Toxina de Shiga, *Corynebacterium diphtheriae* com o gene que codifica a para produção da Toxina Diftérica, *Streptococcus pyogenes* com o gene que codifica a para produção da Exotoxina Pirogênica (causa escarlatina).

Importante:

Não turve sua visão discutindo se na vida real uma bactéria é patogênica ou não!!!!

Patogênico ou Saprófita ou ... **são axiomas necessários para formação de conhecimento do aluno de graduação.**

Na “vida real”, as bactérias “desconhecem” essas definições e exibem essas características em função de inúmeros fatores, sejam do hospedeiro, da própria bactéria ou mesmo ambientais.

Saiba que muitas vezes não existe uma correlação exata entre os temas para aprendizado de graduação com vida real, principalmente em temas da área biológica.

Capítulo 12

Considerações Práticas sobre os Microrganismos de Importância Higiênico-Sanitária

Os alimentos “in natura” normalmente possuem uma microbiota típica, em geral, associada à sua superfície. Já alimentos processados, principalmente os submetidos a processamentos térmicos “drásticos”, como os enlatados e enfrascados, não possuem microrganismos.

A microbiota dos alimentos “in natura” é controlada por diferentes mecanismos como estruturas físicas como a sua casca, a elevada acidez observada em frutas cítricas, a presença de enzimas como a lisozima da clara do ovo que possui ação sobre a parede celular das bactérias ou, mesmo substâncias tipicamente com ação antimicrobiana como as encontradas em especiarias como cravo, canela, orégano, tomilho, alho, cúrcuma e pimenta-do-reino. A eficácia desses mecanismos de controle da microbiota determina a perecibilidade dos alimentos.

A falta de controle da microbiota determina a perda da qualidade microbiológica dos alimentos e pode culminar na sua deterioração microbiana. A perda da qualidade microbiológica deve ser entendida como a multiplicação dos membros da microbiota resultando na diminuição das suas propriedades nutricionais, mas sem alterações das propriedades sensoriais (aspecto, sabor, odor, ...). Já na deterioração microbiana são observadas alterações das propriedades sensoriais, que desfavorecem o consumo dos alimentos e que estão diretamente relacionadas a sua composição principal (alimentos proteicos = odor desagradável; alimentos ricos em carboidratos = acidez em função da fermentação; ...).

Desse modo, podemos considerar que **na microbiota dos alimentos “in natura” existe um grupo de microrganismos que representa risco à sua conservação – os deteriorantes.**

Durante a produção, irrigação, colheita, transporte, armazenamento e processamento dos alimentos diferentes microrganismos podem ser incorporados a microbiota. Um grupo importante seriam os **“Microrganismos de Importância Higiênica”**, representado por microrganismos que indicam que as práticas de “limpeza” durante essas etapas não foram corretamente aplicadas. Pensando nos consumidores, **a presença desses microrganismos implica em risco da possível presença de microrganismos que podem causar doença relacionada ao consumo dos alimentos.** Observe que foi utilizado o termo **risco**, isto porque **esses microrganismos não estariam DIRETAMENTE associados a ocorrência da doença.** Na Análise Microbiológica de Alimentos esses microrganismos são denominados de **“Indicadores”**.

Certamente o grupo de microrganismos mais importante nos alimentos seriam os chamados **“Microrganismos de Importância Sanitária”**, ou seja, microrganismos que estariam diretamente associados a ocorrência de doenças decorrentes do consumo do alimento - **Doenças Transmitidas por Água e Alimentos (DTAs)**. Nesse caso, o termo **“Sanitária”** remete diretamente a ideia de doença. Na Análise Microbiológica de Alimentos esses

microrganismos são denominados de “**Patógenos Específicos**” ou “**Patógenos Específicos de DTA**”.

Observe que a forma correta da sua denominação é “**Patógeno Específico**” ou “**Patógeno Específico de DTA**”. O uso de patógeno ou patogênico é muito abrangente e **não teria o mesmo significado**. Considere por exemplo um vegetal como a alface. Ela é plantada no solo onde existem muitas bactérias esporuladas como por exemplo o *Clostridium tetani* (bactéria causadora do tétano). Essa bactéria é considerada **tipicamente patogênica**, mas diferentemente dos “**Patógenos Específicos de DTA**” ela não causa doença em função do consumo da alface – **o tétano é uma doença relacionada a ferimentos perfurantes, não tendo qualquer relação com o consumo de alimentos**.

Podemos considerar também que em alguns alimentos existem microrganismos cujo consumo implica em benefícios aos indivíduos. Esses são conhecidos como “**Probióticos**” e não serão objeto de mais considerações pela extensão do tema.

Resumindo os termos mais importantes sobre a denominação de microrganismos da microbiota de alimentos apresentados até o momento esse capítulo:

- **Deteriorantes:** microrganismos cuja **multiplicação sem controle leva a alterações das propriedades sensoriais que desfavorecem o consumo dos alimentos**; são um risco para a conservação dos alimentos;
- **Microrganismos de Importância Higiênica:** microrganismos que indicam que as práticas de “limpeza” durante a produção do alimento não foram corretamente aplicadas. **Sua presença nãos alimentos implica em risco da possível presença de microrganismos que podem causar DTAs**. Na Análise Microbiológica de Alimentos esses microrganismos são denominados de “**Indicadores**”;
- “**Microrganismos de Importância Sanitária**”: microrganismos que **estariam diretamente associados a ocorrência de DTAs**. Na Análise Microbiológica de Alimentos esses microrganismos são denominados de “**Patógenos Específicos**” ou “**Patógenos Específicos de DTA**”.

Nota:

As atualizações da legislação de alimentos introduziram, junto com a determinação de microrganismos de importância higiênico-sanitária nos alimentos, a pesquisa também de substâncias que podem causar quadros de DTAs produzidas ou relacionadas a bactérias.

A toxina estafilocócica passou a ser pesquisada em diferentes alimentos, e sua produção decorre da multiplicação de estafilococos enterotoxigênicos no alimento. Como essas toxinas são termoestáveis sua detecção é imprescindível em alimentos que após a multiplicação estafilocócica e produção da toxina o alimento é aquecido; como isso a bactéria é eliminada e não seria detectada na análise microbiológica Contagem de Estafilococos Coagulase Positivo.

A histamina é uma amina vasoativa bastante conhecida tendo inúmeras funções imunológicas, no sistema nervoso e no trato intestinal. Nas alergias alimentares é comum à sua liberação, o que determina sinais e sintomas como náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, sudorese, erupção cutânea, espirros, nariz entupido e coriza, olhos lacrimejantes e edema na face. Esta substância pode ser produzida por bactérias a partir da descarboxilação do aminoácido histidina. As bactérias mais frequentemente envolvidas nessa transformação são enterobactérias das espécies ***Morganella morganii*** e ***Proteus vulgaris***. Este processo ocorre em peixes, geralmente de carne escura como atum, bonito, cavala, cavalinha e sardinha, e que apresentam uma baixa qualidade microbiológica em função de falhas na “cadeia de frio”. A histamina é uma substância com potencial tóxico que é um parâmetro analítico de alimentos da categoria de Pescados.

Deve ser ressaltado que nas investigações de surtos de DTAs os parâmetros analíticos, inclusive com a pesquisa de outras toxinas bacterianas, podem ser ampliados pela autoridade sanitária.

Não deixe de consultar a legislação vigente para observar a estreita correlação das bactérias de importância higiênico-sanitária com os **parâmetros analíticos** dos **Padrões Microbiológicos de Alimentos** da legislação vigente. Veja nos quadros abaixo uma síntese dessa correlação e aproveite para consultar também o capítulo similar a esse que começa na página 35 do Caderno de Microbiologia.:

Classificação: Utilidade (Indicador das Condições Higiênicas)	
Parâmetro Analítico	Importância
Contagem de Aeróbios/Facultativos Mesófilos Viáveis*	Mostram a “ Carga Microbiana ”. Sua utilidade é avaliar as condições higiênicas de produção, transporte, armazenamento e conservação. A escolha de CPP ou CBL depende de características do alimento (pH, osmolaridade, atmosfera, ...). → Não possuem risco a saúde do comensal; → Deteriorantes (Risco ao alimento);
Contagem de Fungos Filamentosos e Leveduras Viáveis**	

*Outras denominações: Contagem de Aeróbios Mesófilos; Contagem Padrão em Placa; CPP;

** Outras denominações: Contagem de Bolors e Leveduras; CBL;

Classificação: Indicadores (Indicador das Condições Sanitárias)	
Parâmetro Analítico	Importância
Contagem de Enterobacteriaceae*	Indicador de contaminação fecal, contudo é muito abrangente. Pouco específico em relação a contaminação fecal pois essas bactérias podem apresentar grande longevidade ambiental. → Baixo risco a saúde do comensal; → Risco Indireto (o risco decorre da possível presença de outros microrganismos que sejam enteropatogênicos);
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	
Contagem de coliformes**	

* Outras denominações: Contagem de Membros da Família Enterobacteriaceae

** A Contagem de Coliformes praticamente só é realizada, ainda, na análise de águas envasadas e similares.

Classificação: Patógeno Específico de Perigo Moderado)	
Parâmetro Analítico	Importância
Contagem de <i>Estafilococos</i> Coagulase Positiva	Bactérias causadoras de DTAs. A DTA pode ser uma intoxicação (estafilocócica e por <i>B. cereus</i> emético), uma infecção diferenciada por <i>B. cereus</i> diarreico) ou um quadro com patogenia diferenciada (<i>C. perfringens</i>). A ocorrência dessas DTAs é favorecida pela multiplicação da bactéria no alimento (por isso são realizadas Análises Quantitativas – Contagem de ...) → Quadros de curta duração; → Em geral, não exige internação; → Em geral, não existe risco de óbito; → Não deixa sequelas no comensal;
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>	
Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>	

Classificação: Patógeno Específico de Perigo Grave ou Severo)	
Parâmetro Analítico	Importância
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp (Perigo Grave)	Bactérias causadoras de DTAs do tipo INFECÇÃO, em geral sistêmica. Pode se letal ou causar sequelas ou doença de longa duração. Pode se disseminar na população em geral. Pelo elevado risco são realizadas Análises Qualitativas em unidades amostrais elevavadas (10 g; 25 g). → Alto índice de internação; → Quadros podem ser de longa duração; → Existe risco de óbito; → Pode deixar sequelas no comensal;
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> (Perigo Grave para População em Geral e Perigo Severo para População Susceptível)	
Pesquisa de <i>Cronobacter</i> spp (Perigo Severo para População Susceptível)	

Os exemplos de microrganismos dados tiveram como base a legislação da ANVISA (RDC 724 - 2022 e IN161 – 2022), mas podem ser ampliados em normas de outras órgãos de fiscalização, no curso de investigações de surtos de DTAs ou em situações epidemiológicas específicas. A bactérias citadas são as causas mais comuns de DTAs investigadas pela Vigilância Sanitária no Brasil, mas a lista de possíveis agentes causadores de DTA é muito mais extensa do que a apresentada.

Capítulo 13

Análises Microbiológicas de Alimentos – Visão da ANVISA

Muito do conhecimento sobre as **Análises Microbiológicas de Alimentos** decorre do seu uso por órgãos reguladores/fiscalizadores. Nesse sentido se destaca a **ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária)** que pela grande capacitação técnica e atualização constante das suas normas é uma ótima referência de estudo. Por isso, indicamos a a necessidade do aluno de graduação de Nutrição se inteirar das legislações desse órgão, em particular a **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 724, DE 1º DE JULHO DE 2022** e a **INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022** (disponibilizadas no site da Disciplina).

Observe que a ANVISA legisla somente sobre “**alimentos prontos para oferta aos consumidores**”. Desse modo, itens como matérias primas e similares são objeto de normas de outros órgãos como por exemplo o **Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA)**.

Nesse capítulo, as legislações da ANVISA serão usadas como modelo de estudo das Análises Microbiológicas de Alimentos, mas elas não atendem a todos os propósitos, **pois o seu foco é o estabelecimento de Padrões Microbiológicos dos Alimentos determinando a segurança do seu consumo, além de auxiliarem na investigação de alimentos em surtos de DTA.**

Para os órgãos de Vigilância Sanitária essas legislações são uma ferramenta imprescindível de trabalho, mas para as questões cotidianas do “Controle de Qualidade” de alimentos, muitas vezes elas são de pouca utilidade.

Observe esse exemplo: quero saber se a qualidade microbiológica de um produto a base de carne cozida defumada que está sendo mantida após o armazenamento sob refrigeração. Pela legislação, seria necessária realizar uma análise com quatro parâmetros analíticos (**Pesquisa de *Salmonella*; Contagem de *Clostridium perfringens*; Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva e Contagem de *Escherichia coli***), com um custo elevado e tempo para liberação de resultados demorado e o resultado da maioria desses parâmetros analíticos **não se correlacionaria com minha questão de fundo: “quero saber se a qualidade microbiológica de um produto está sendo mantida após o armazenamento sob refrigeração”**. Nesse caso, a realização da **Contagem Total de Aeróbios/Facultativos Mesófilos Viáveis** seria muito mais vantajosa (de baixo custo e rápida).

O primeiro passo para entender as **Análises Microbiológicas de Alimentos**, e as legislações relacionadas a elas, é entender o que é **Parâmetro Analítico**. Esse termo é usado para nominar **a análise que será realizada**. A partir do parâmetro analítico serão estabelecidos os **Padrões Microbiológicos dos Alimentos**, veja o exemplo a seguir:

9. LEITE E DERIVADOS	Micro-organismo/Toxina/Metabólito	n	c	m	M
e) Produtos lácteos em pó, incluindo leite, compostos lácteos, soro de leite e concentrados proteicos de leite ou de soro	Enterotoxinas estafilocócicas (ng/g) ³	5	0	Aus	-
	Salmonella/25g ³	10	0	Aus	-
	Enterobacteriaceae/g ³	5	0	10	-
	Estafilococos coagulase positiva/g ³	5	1	10	10 ²
	Aeróbios mesófilos/g ³	5	2	3x10 ⁴	1x10 ⁵

- 1** - Descrição detalhada dos **Grupos**, e suas **Categorias, de Alimentos**;
- 2** - **Parâmetro Analítico**- referência “**abreviada**” do nome da análise. **Deve ser sempre citado de forma completa**: Enterotoxinas Estafilocócicas – **Pesquisa Imunológica de Enterotoxinas Estafilocócicas**; Salmonella – **Pesquisa de Salmonella**; Enterobacteriaceae – **Contagem de Membros da Família Enterobacteriaceae**; Estafilococos coagulase positiva – **Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva**; **Aeróbios mesófilos** – **Contagem de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas Viáveis**. (**academicamente, a forma usada na escrita dos parâmetros analíticos na legislação não deve ser usada**). Observe que a legislação é bem abrangente: podem ser bactérias, toxinas bacterianas (no exemplo as enterotoxinas estafilocócicas) e metabólitos bacterianos (no grupo pescado é citada a histamina, metabólito produzido por bactérias que causa DTAs).
- 3** - Tamanho da unidade analítica (25 g; 10 g; 1 g) – quantidade da amostra de alimento a ser analisada.
- 4** - **Amostragem: Amostra Representativa** - número de unidades amostrais a serem coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. (na impossibilidade ou a critério da autoridade sanitária pode ser feita analisada um número inferior de amostras - **Amostra Indicativa**).
- 5** - **Plano de Amostragem**: o resultado da análise da amostra analisada a classificada em categorias. Pode ser de “**Duas Classes**” (“**Qualidade Aceitável**” e “**Qualidade Inaceitável**”) ou de “**Três Classes**” (“**Qualidade Aceitável**”, “**Qualidade Intermediária ou Marginal**” e “**Qualidade Inaceitável**”).

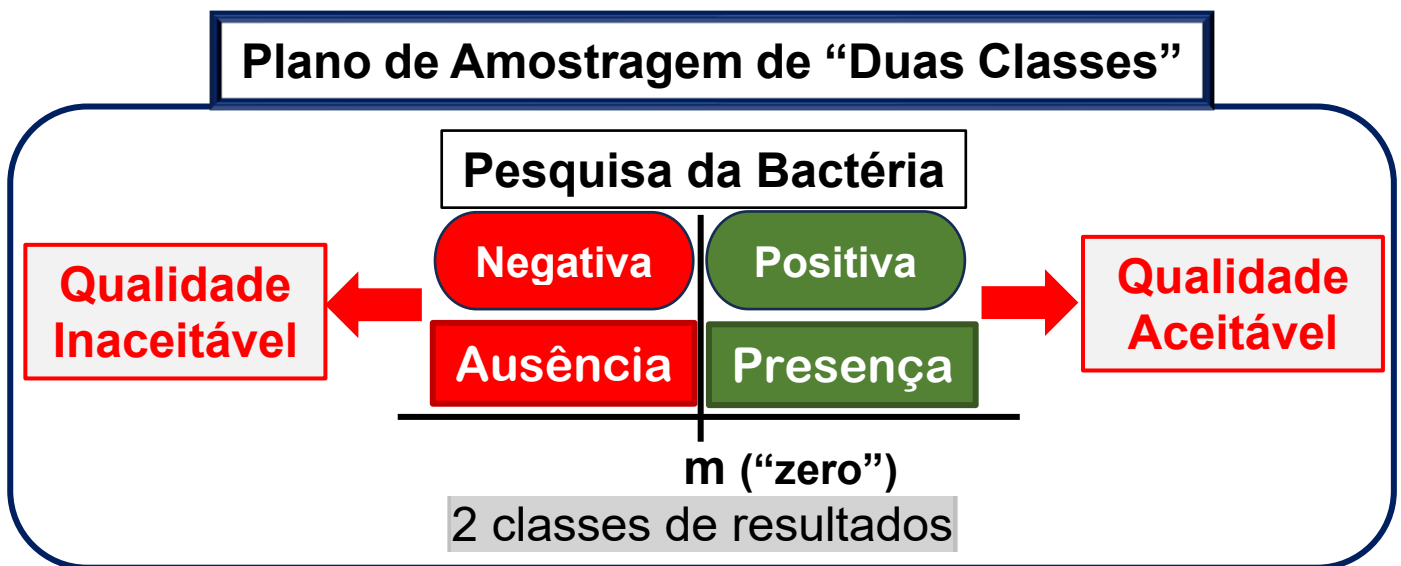
Detalhamento do Plano de Amostragem:

Aparentemente esse assunto parece complexo. Contudo, a compreensão individual de cada um dos elementos envolvidos resolve essa dificuldade. Em primeiro lugar deve ser observado

que existem duas importantes metodologias de Análises Microbiológicas de Alimentos: as **Qualitativas** ou **Quantitativas**.

- **Análise Qualitativa:**

O nome da **Análise Qualitativa** é sempre precedido de “**Pesquisa de ...**”, com isso o seu resultado só pode ser “**Presença de**” ou “**Ausência de**”. O valor “**m**” é o limite mínimo de aceitação microbiológica. Observe no exemplo da legislação anteriormente dado que o seu resultado nas duas Análises Qualitativas (Pesquisa Imunológica de Enterotoxinas Estafilocócicas e Pesquisa de *Salmonella*) é **Aus** (Ausência).



Esse é um resultado **absoluto** (não admite variação), por isso dentro das Análises Microbiológicas essa análise é considerada muito **exigente = rigorosa = restritiva**. Esse rigor pode ser modulado com o aumento do tamanho da unidade analítica, por exemplo Ausência em 25 g do alimento é 2,5 mais rigorosa que Ausência em 10 g – ou seja aumentado a tamanho da unidade analítica a **o nível de EXIGÊNCIA da análise** aumenta de forma diretamente proporcional.

As análises qualitativas são exigidas em situações bastante específicas, como por exemplo:

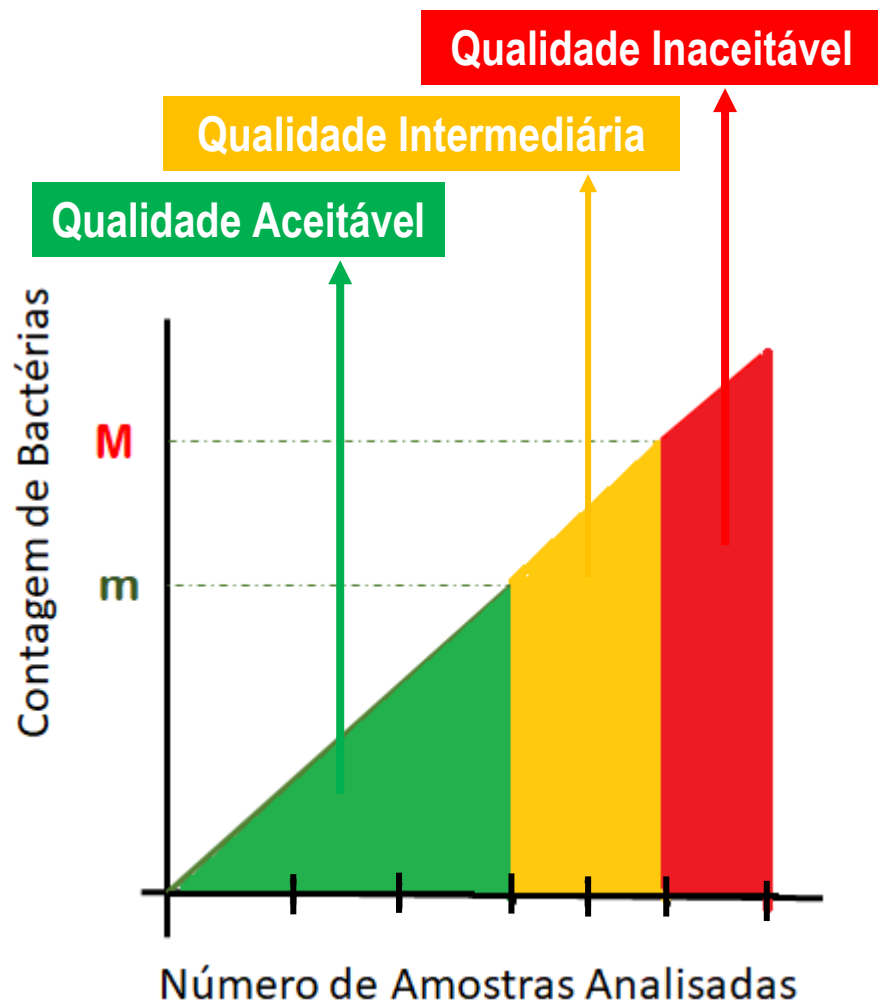
- A **enterotoxina estafilocócica** possui um Dose Intoxicante extremamente baixa e como não é possível prever quanto do alimento um comensal vai ingerir a melhor estratégia para garantir a segurança de consumo do alimento e estabelecer a **AUSÊNCIA** da toxina;
- As **salmonelas** (*Salmonella sp*; *Salmonella Enteritidis*; *Salmonella Typhimurium*) são enterobactérias que pode fazer invasão transepitelial, e com isso atingir a corrente sanguínea e causar infecções disseminadas que apresentam uma alta **Taxa de Hospitalização e Risco de Morte do Doente**. Como a evolução para quadros graves é imprevisível, a conduta mais prudente é estabelecer que a **AUSENCIA** da bactéria na amostra analisada para garantir a segurança de consumo do alimento;

- Em alimentos prontos para o consumo, destinados a lactentes ou para fins especiais é exigido ausência de ***Listeria monocytogenes*** em 25g ou mL. Isto porque essa bactéria é um patógeno oportunista, que pode causar infecções sistêmicas com uma alta **Taxa de Hospitalização e Risco de Morte do Doente**.
- Em fórmulas infantis em pó para lactentes (até seis meses de idade), destinadas a necessidades dietoterápicas específicas e para recém-nascidos de alto risco é exigido AUSÊNCIA de ***Cronobacter ssp*** em 10 g da amostra, um patógeno
- Consultando a legislação vigente podem se encontrar outros exemplos, como por exemplo em água envasadas (Água mineral natural, água natural, água adicionada de sais e água do mar dessalinizada potável) é estabelecida AUSÊNCIA importantes indicadores de contaminação fecal (Coliformes totais/250mL; *Escherichia coli*/250mL; *Enterococos*/250mL; Esporos de clostrídios sulfito redutores/50mL; Esporos de *Clostridium perfringens*/50mL) e de uma bactéria oportunista, *Pseudomonas aeruginosa*/250mL, tendo em vista que muitas vezes esse produto é usado complementarmente na terapia de doentes.

- **Análise Quantitativa:**

A **Análise Quantitativa** é sempre denominada de “**Contagem de ...**” e o seu resultado classifica a amostra analisada em três classes (“**Qualidade Aceitável**”, “**Qualidade Intermediária ou Marginal**” e “**Qualidade Inaceitável**”) com base nos limites microbiológicos “**m**” (mínimo) e “**M**” (máximo).

Em geral, as bactérias objeto dessas análises devem se multiplicar no alimento para que produzam a toxina envolvida na determinação da DTA. Desse modo, nessas situações é esperada uma contagem elevada da bactéria. Outra possibilidade é no caso de ‘Infecções com uma Patogenia Diferenciada’ onde o fator importante é a quantidade da bactéria no alimento. Uma justificativa importante para as metodologias quantitativas é que em muitos alimentos a bactéria em questão pode fazer parte da própria microbiota do alimento ou introduzida em quantidades reduzidas durante o seu processamento. Consequentemente, caso ela não se multiplique (e produza toxina) não existe risco de consumo desse alimento. Essa metodologia reconhece que, muitas vezes, o processamento dos alimentos não é uniforme podendo existir no lote produzido unidades com uma qualidade inferior a esperada, mas que não apresenta risco ao consumo desse alimento. Desse modo, nessa análise devem ser observados os **limites microbiológicos “m” (mínimo)** que irá caracterizar as unidades com “**Qualidade Aceitável**” e um limite “**M**” (máximo) onde as amostras com resultados entre “m” e “M” possuem “**Qualidade Intermediária ou Marginal**”. Amostras com resultados acima de “**M**” terão “**Qualidade Inaceitável**”. Essa caracterização exige a introdução de um novo parâmetro “**c**” que estabelece o número máximo de amostras com “**Qualidade Intermediária ou Marginal**”.



Histórico de Correções

Versão 3
Todos os capítulos receberam uma indicação numérica.
Foi criado o Capítulo 11 - Termos e Conceitos Aplicados a Microrganismos Patogênicos.
Foi criado o Capítulo 12 - Considerações Práticas sobre os Microrganismos de Importância Higiênico-Sanitária
Foi criado o Capítulo 13 - Análises Microbiológicas de Alimentos – Visão da ANVISA