



Disciplina de Microbiologia

Ensino Remoto

Curso de Nutrição - Integral

Professor Ministrante:

Renato Geraldo da Silva Filho

renato.geraldo.silva@unirio.br



Aula: Microrganismos de Importância Higiênico-Sanitária

FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS



Microbiota
do Frango

Pode ter na
Microbiota
Intestinal
salmonelas



A
b
a
t
e
d
o
u
r
o



Evisceração Ok



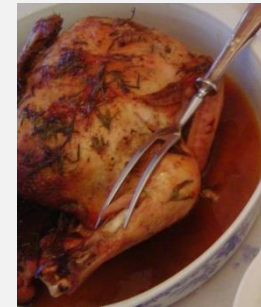
Microbiota da Carcaça
de Frango Resfriada

Incorporou a Microbiota
das Superfícies do
Abatedouro

Parte da Microbiota
foi “Estimulada”
pela Cadeia de Frio



C
o
n
s
u
m
i
d
o
r



Microbiota do
Frango Coccionado

Incorporou a
Microbiota dos
Condimentos

Microbiota **Sobrevivente**
ou Seleccionada pela
Cocção



C
o
n
s
u
m
o

FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

Alterações da Microbiota



**Muitas Vezes a
Microbiota é Dinâmica**

Alteração da Qualidade

**Deterioração
Microbiana**

**Baixa Qualidade
Microbiológica**

**Doenças Transmitidas
por Alimentos**

**Análise
Sensorial**

**Análise
Físico-Química**

**Análise
Microbiológica**

MICROORGANISMOS INDICADORES**Conceito:**

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

Utilização:

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

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

Aplicação Prática:

Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas

Resultado: **AUMENTO**

Contagem de *Escherichia coli*

Resultado: **AUMENTO**

Avaliação das Condições
Higiênico-Sanitárias

MICROORGANISMOS INDICADORES

Aplicação Prática:



Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilos

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Higiênica: **Baixa**

Sanitária: Sem comentários

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

Contagem de *Escherichia coli*

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Sanitária: **Baixa**

Risco de DTA: **Aumentou**

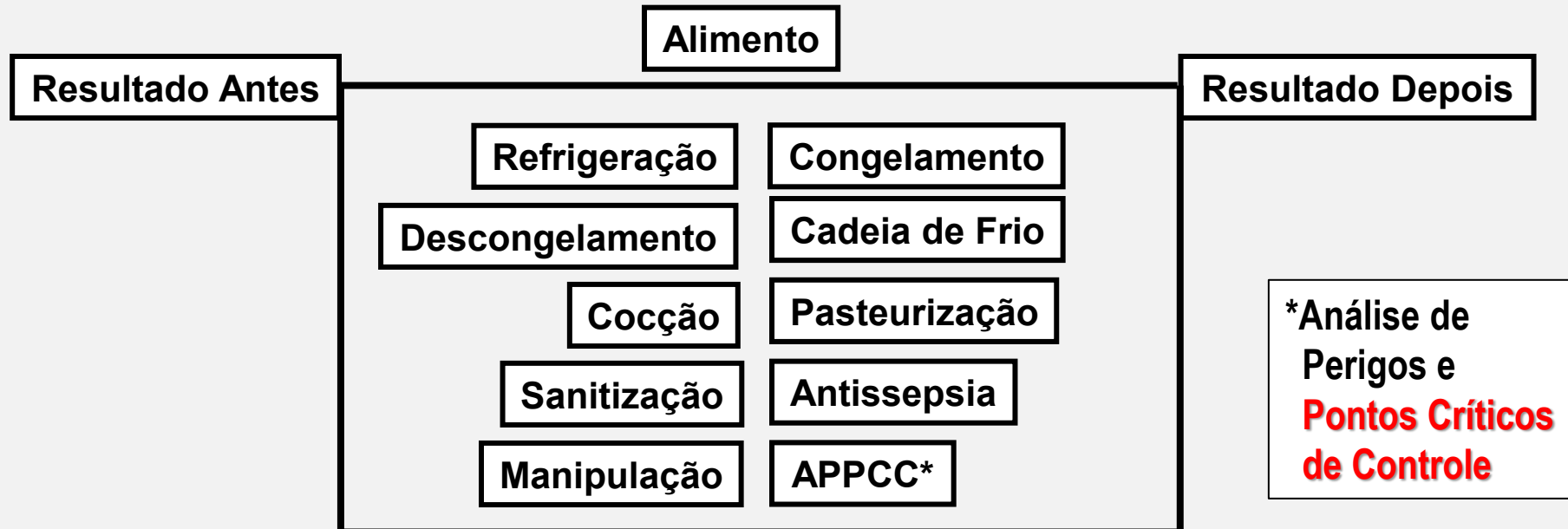
Causará DTA: Sem comentários

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

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

MICROORGANISMOS INDICADORES**Melhor Ferramenta de Avaliação****Visão Ampliada do Uso:**

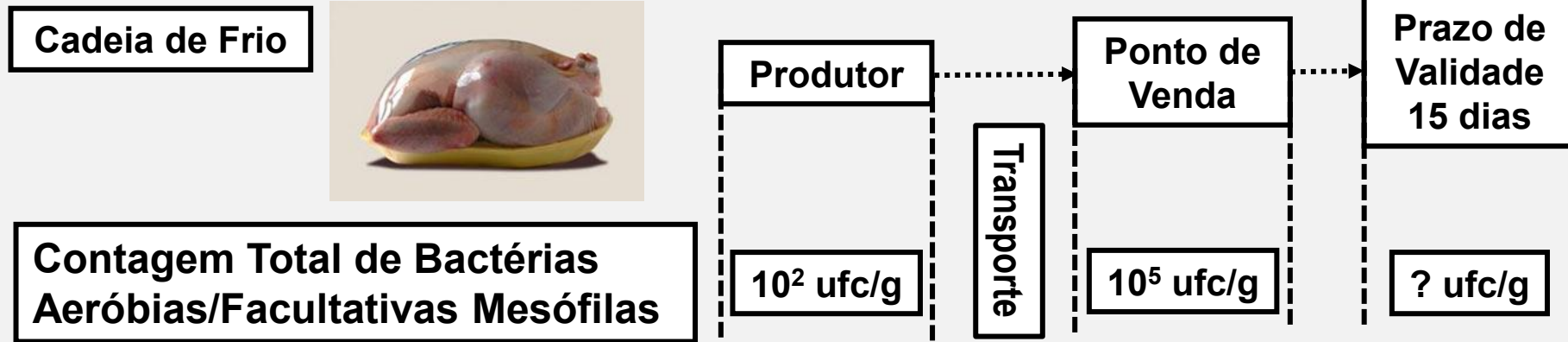
→ Avaliação da Eficácia de Processos / Procedimentos que Influenciam a Qualidade Microbiológica de Alimentos;



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

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

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??



A Cadeia de Frio protegeria o alimento da deterioração?

Possivelmente Não!!!

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

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes

Depois

Contagem Total de Bactérias
Aeróbias/Facultativas Mesófilas

10^5 ufc/g

10^3 ufc/g

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

Esse alface é seguro para o consumo?

“Muito Pouco”
posso afirmar!

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

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

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes

Depois

Consumo

Contagem de *Escherichia coli*

10^4 ufc/g

$< 10^1$ ufc/g

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

Possivelmente SIM, pois *E. coli* $\approx$ enteropatógenos (*Salmonella*; *Shigella*; ...)

Bastonete Gram Negativo

Família Enterobacteriaceae

Bastonete Gram Negativo

Família Enterobacteriaceae

Seria um bom representante do grupo dos enteropatógenos ...

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes

Depois

Contagem de *Escherichia coli*

10^4 ufc/g

10^3 ufc/g

A Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio do alface reduziu a contagem de *E. coli* em 1 log, mostrando o seu nível de eficiência.

Esse alface não é seguro para o consumo?

Causará DTA nos comensais?

MICRORGANISMOS INDICADORES

Não CAUSAM DTAs

Avaliação do Risco de Ocorrência de DTAs

Quem causa DTA?

Patógenos Específicos

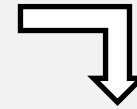
TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ QUANTITATIVAS (Contagem de ...)

1 mL da
Amostra



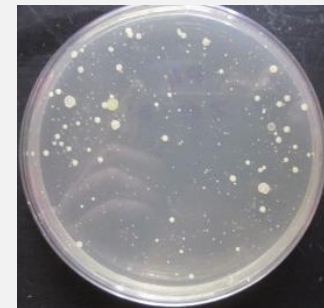
Adicionar o Meio
de Cultura Estéril



Incubar a
35°C por 48 h



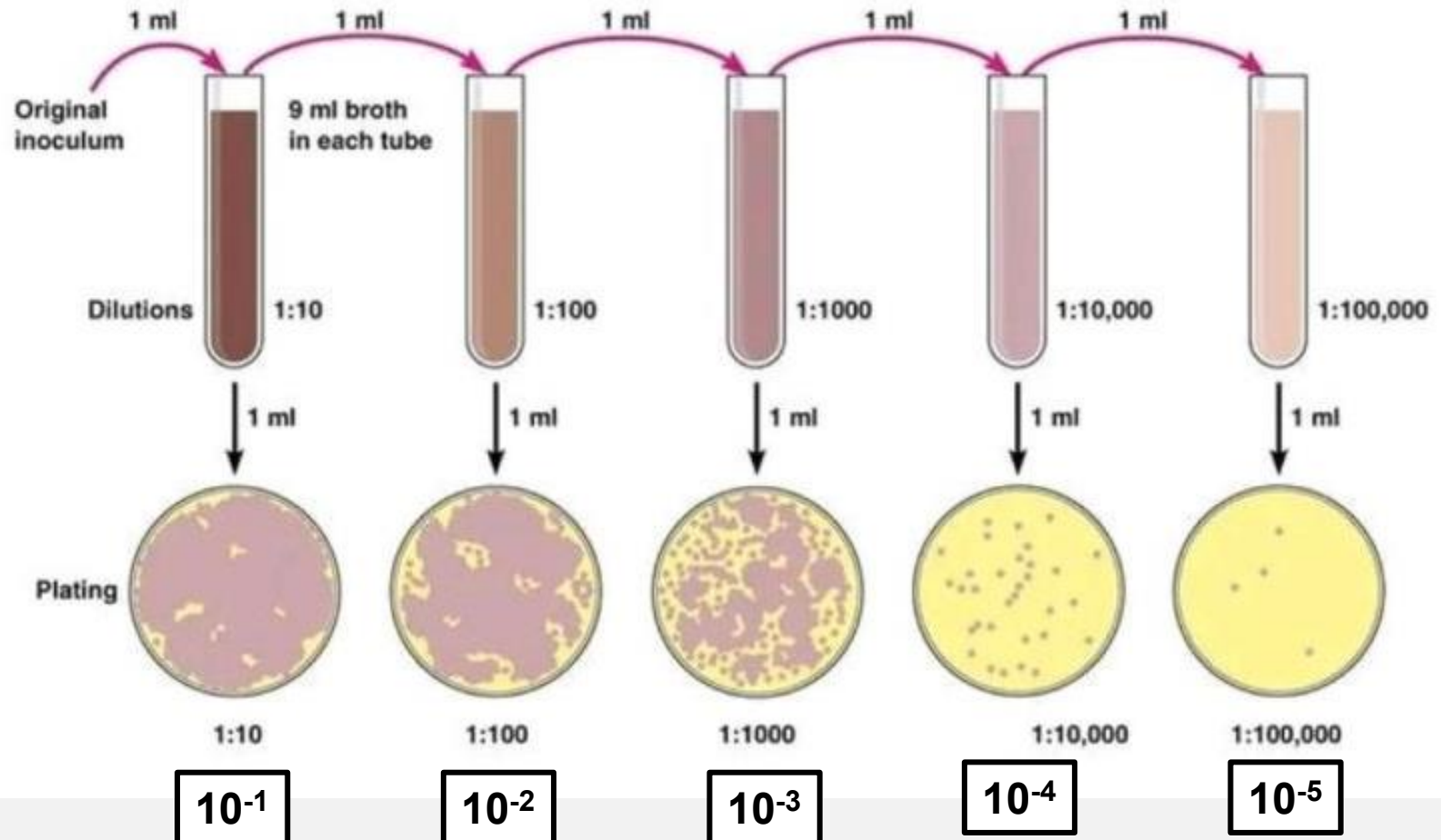
Contar as
Colônias



Resultado:
223 ufc/mL

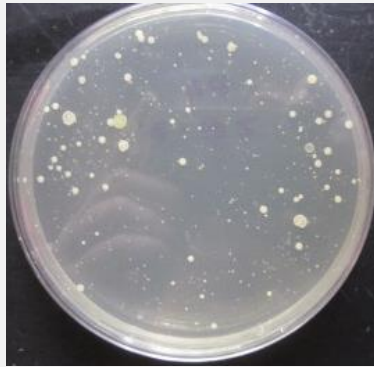


Unidade
Formadora de
Colônia

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS**→ Diluição Seriada nas Análises Quantitativas**

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Análises Quantitativas de Bactéria de “Utilidade” – Indicadoras:



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



**Contagem de Fungos
Filamentosos e
Leveduras
(Contagem de Bolores e
Leveduras; CBL)**



**Contagem de
membros da
Família
Enterobacteriaceae**

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Analises Quantitativas de Patógenos Específicos de DTAs



**Contagem de
*Staphylococcus aureus***



**Contagem de
*Bacillus cereus***



**Contagem de
*Clostridium perfringens***

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ QUALITATIVAS (Pesquisa de ...)

Salmonella

Enriquecimento Seletivo

Pré-Enriquecimento

25 g/mL da amostra

+

225 mL de Caldo Lactosado

Incubar
35°C / 18 h

Alíquotas

0,1 mL

1 mL

Caldo Rappaport-
Vassilidis Soja (RVS)

10ml

Caldo Tetrionato Muller
Kauffmann Novobiocina
(MKTTn)

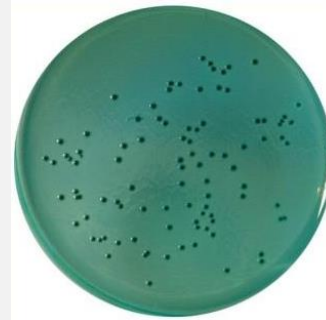
10ml

35°C

45,5°C

Incubar por 24 h

Repicar

Ágar Hektoen
EntéricoÁgar XLD
(xilose; lisina;
desoxicolato)Resultado:
Presença 25 g/mL

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Análises Qualitativas

Bactérias que determinam risco de hospitalização/morte aos doentes

Resultado:

Ausência**Presença**• Pesquisa de *Salmonella*

25 g

Salmonella spp.*Salmonella* Enteritidis*Salmonella* TyphimuriumCarne
de aves• Pesquisa de *Cronobacter* spp.

10 g

- Fórmulas em pó para lactentes
- Fórmulas enterais para lactentes

• Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

1 g

- Alimentos pronto para consumo

25 g

- Alimentos pronto para consumo de lactentes

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Análises Quantitativas para Patógenos Específicos de DTAs

Bactérias que se multiplicam no alimento e produzem um toxina.



Staphylococcus aureus

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



Bacillus cereus

Ágar MYP
(manitol; gema de
ovo; polimixina)



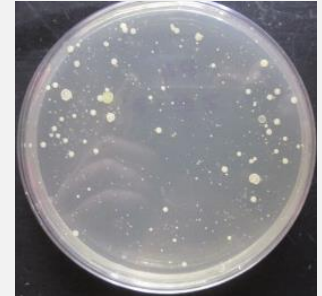
Clostridium perfringens

Ágar TSC
(triptose; sulfito;
cicloserina)

MICROORGANISMOS INDICADORES

Gerais de Contaminação (Carga Microbiana)

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



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



→ Contagem de Total de Viáveis (CPP + CBL)

→ Contagem de Total de Esporulados Viáveis

→ Contagem de Total de Bactérias Lácticas Viáveis

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

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

Grupos → Coliforme (não são uma entidade taxonômica)

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

↳ Exportação de alimentos: Como fica a globalização?

↳ **Estão em desuso!!!**

Famílias → Enterobacteriaceae

Gêneros → *Enterococcus* sp.

Espécies → *Escherichia coli*

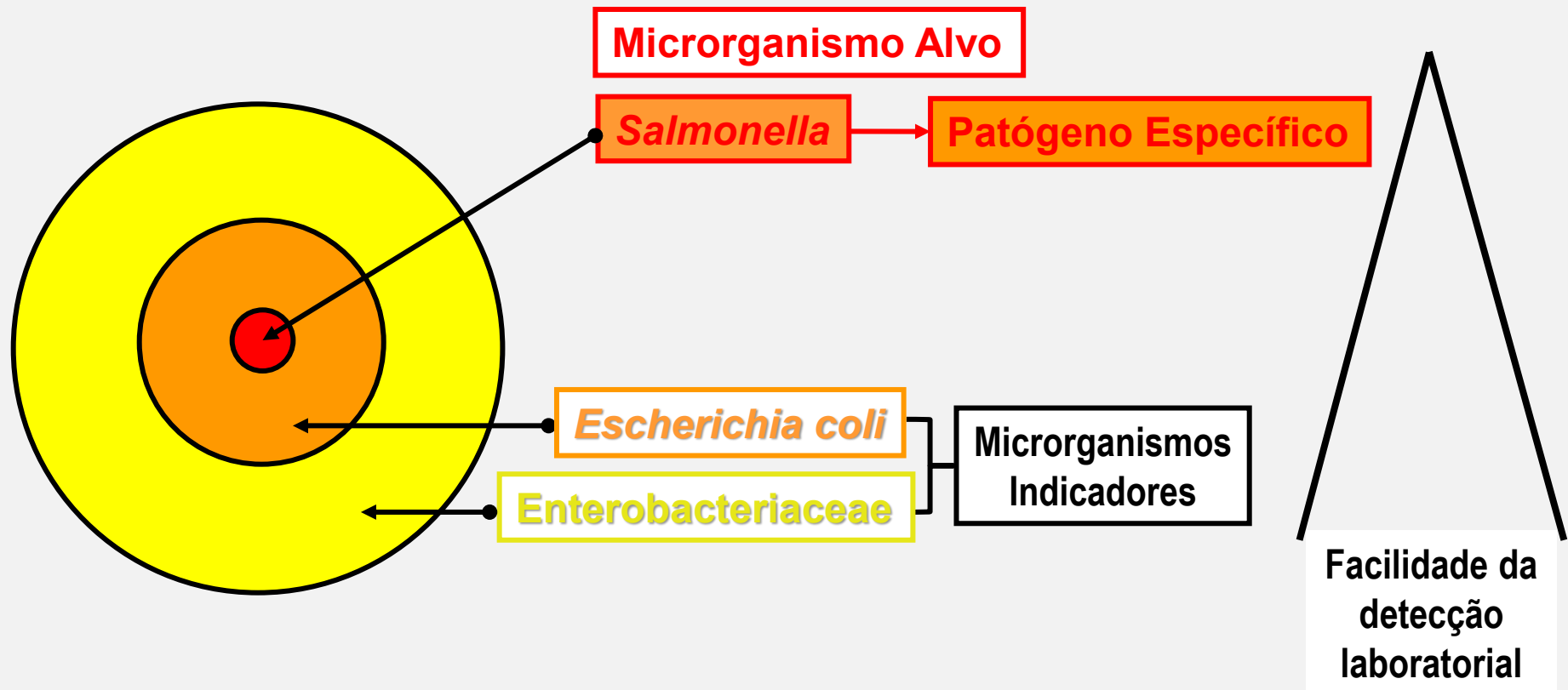
Regras de TAXONOMIA são “universais”!!!

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

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

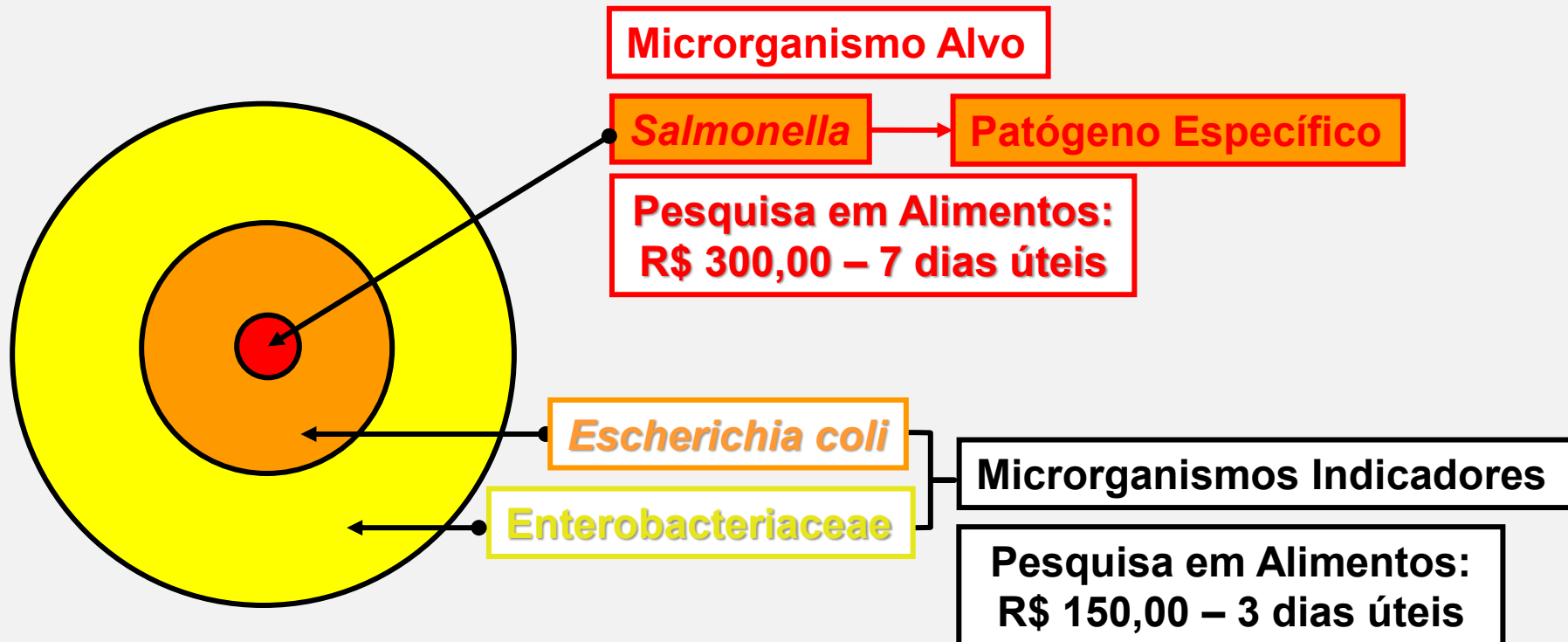
MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL**Premissas para Seleção de Microrganismos Indicadores:**

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



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

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



PRINCIPAIS MICROORGANISMOS INDICADORES

Microrganismos Indicadores de Contaminação Fecal:

→ **Grupo** dos Coliformes;

→ **Espécie** *Escherichia coli*;

→ **Família** Enterobacteriaceae;

→ **Gênero** *Enterococcus*;

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

→ **Espécie** *Clostridium perfringens*;

Ainda Empregados no
Controle de Qualidade
de Águas (de consumo;
minerais, ...)

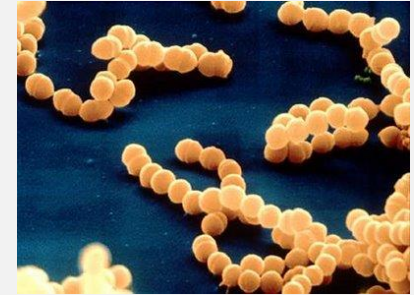
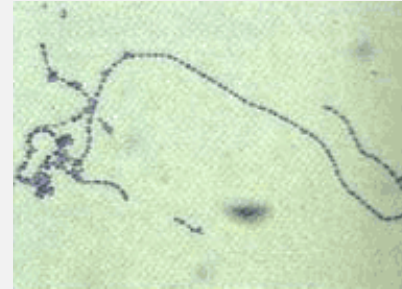
Controle de
Qualidade de
Águas Minerais

Porque tantos? Porque são tão importantes?

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

MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

→ Gênero *Enterococcus*;



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

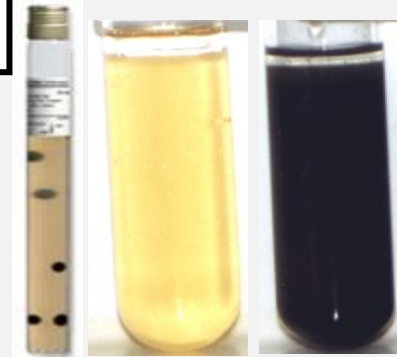
➤ Exigência das especificações de qualidade de Água do Mar;

➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

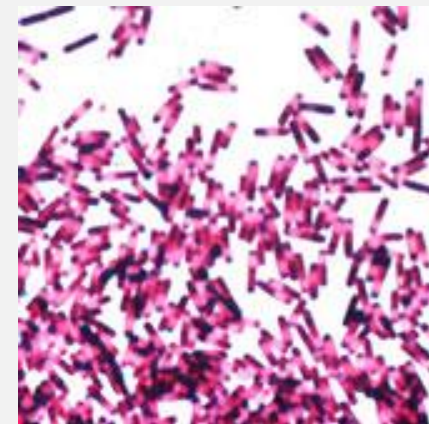
➤ Exigência das especificações de qualidade de Água de Piscina;

MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

→ Clostrídios Sulfito Redutores (CSR);



- é um grupo de bactérias pertencentes ao gênero *Clostridium* que se caracteriza por reduzir o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H_2S) a $46^{\circ}C$.
- gênero *Clostridium*: bastonetes esporulados Gram positivo, encontrado na microbiota do intestino grosso do homem e animais.



➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

→ Indicadores de Contaminação Fecal

➤ Exigência das especificações de qualidade de Alimentos;

→ Não é um Microrganismo Indicador

→ *Clostridium perfringens* – Patógeno Específico de DTAs

MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA SANITÁRIA

→ Contagem de Enterobacteriaceae;

→ Contagem de *Escherichia coli*;

**Microrganismos
Indicadores**

→ **Pesquisa** de *Salmonella*;

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

→ **Pesquisa** de *Cronobacter*;

→ Contagem de *Staphylococcus aureus*;

→ Contagem de *Bacillus cereus*;

→ Contagem de *Clostridium perfringens*;

**Microrganismos
Relacionados a DTAs**

**Patógenos
Específicos**

Observação Importante:

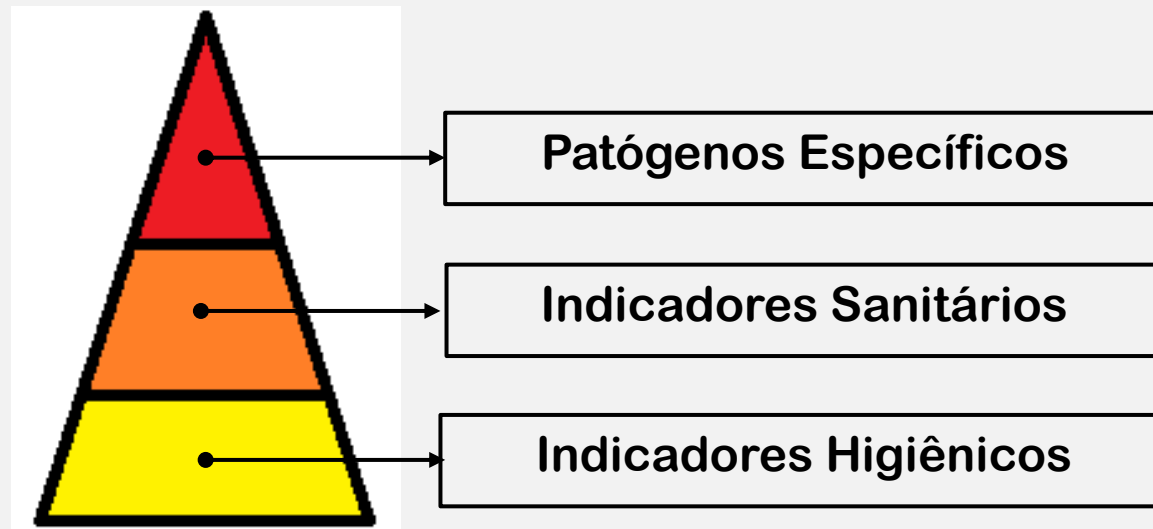
→ Dosagem de Enterotoxinas Estafilocócicas;

→ Pesquisa da Enterotoxina do *Clostridium perfringens*;

→ Pesquisa da Neurotoxina Botulínica;

**Deteção Exige
Análises Específicas**

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



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

CATEGORIA		DESCRIÇÃO
ICMSF - 1986	ICMSF - 2011	
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>