



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



Microbiota da Carcaça de Frango Resfriada

Incorporou a Microbiota das Superfícies do Abatedouro

Parte da Microbiota foi "Estimulada" pela Cadeia de Frio



C
o
n
s
u
m
i
d
o
r



Microbiota do Frango Coccionado

Incorporou a Microbiota dos Condimentos

Microbiota **Sobrevivente** ou Seleccionada pela Cocção



C
o
n
s
u
m
o

FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE ALIMENTOS



Alterações da Microbiota



Alteração da Qualidade

Deterioração Microbiana

Baixa Qualidade Microbiológica

Doenças Transmitidas por Alimentos

Análise Sensorial

Análise Físico-Química

Análise Microbiológica

MICROORGANISMOS INDICADORES

Conceito:

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

Utilização:

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

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

Avaliação das Condições **Higiênico-Sanitárias**

Aplicação Prática:



Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas

Resultado: **AUMENTO**

~~Contagem de Coliformes~~

Resultado: **AUMENTO**

Contagem de *Escherichia coli*

MICROORGANISMOS INDICADORES



Esqueci fora da geladeira por horas!!!!

Aplicação Prática:

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilos

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Higiênica: **Baixa**

Sanitária: **Sem comentários**

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

~~Contagem de Coliformes~~

Contagem de *Escherichia coli*

Resultado: **AUMENTO**

Qualidade Microbiológica

Sanitária: **Baixa**

Risco de DTA: **Aumentou**

Causará DTA: **Sem comentários**

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

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

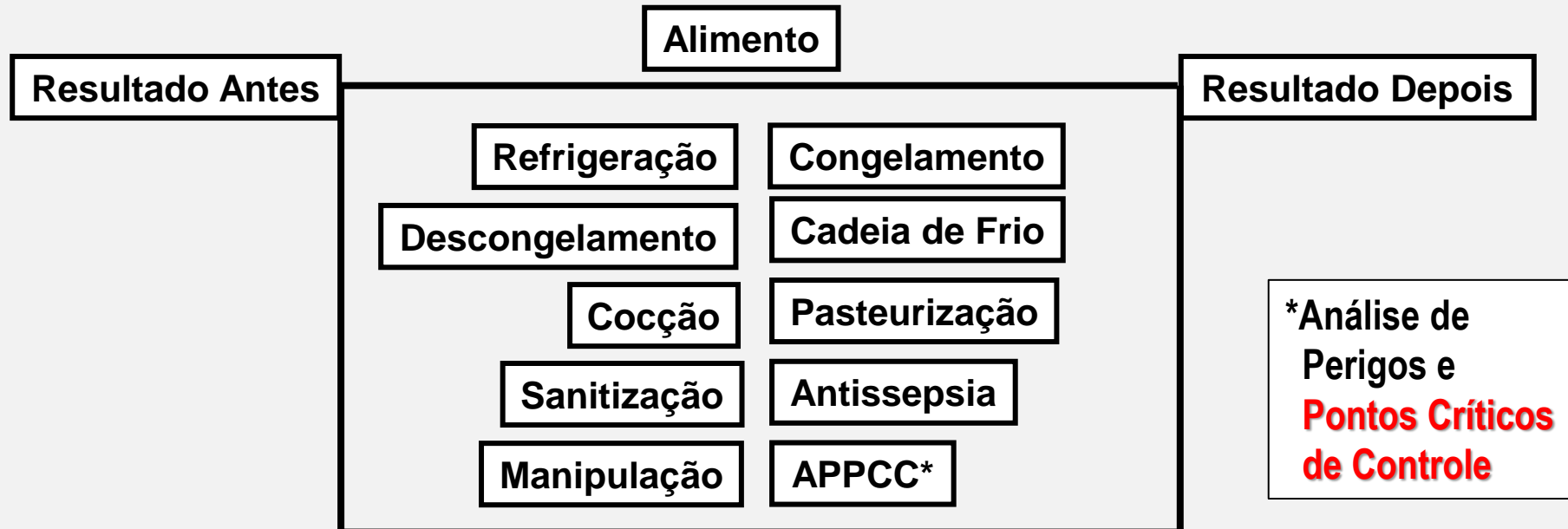
MICROORGANISMOS INDICADORES

Melhor Ferramenta de Avaliação



Visão Ampliada do Uso:

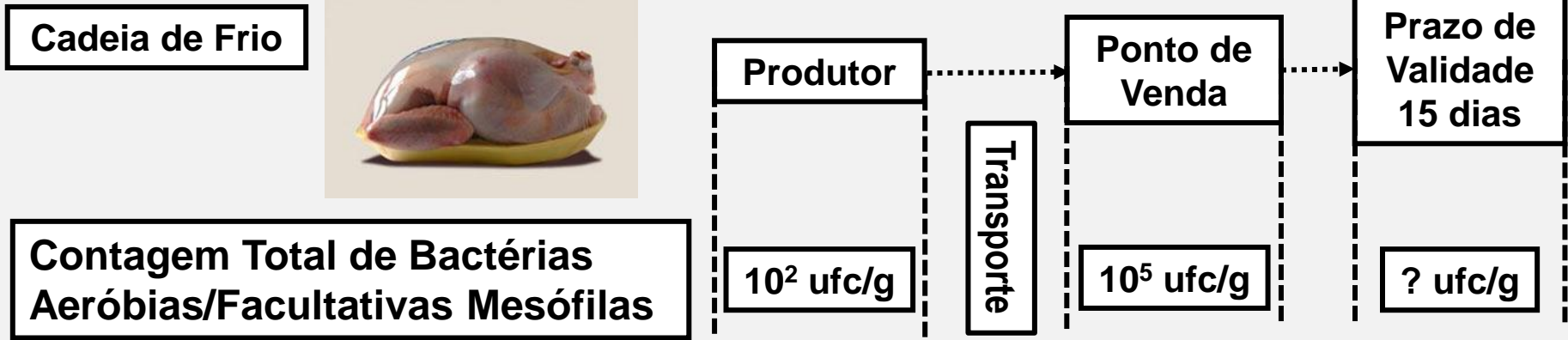
→ Avaliação da Eficácia de Processos / Procedimentos que Influenciam a Qualidade Microbiológica de Alimentos;



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

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??



A Cadeia de Frio protegeria o alimento da deterioração?

Possivelmente Não!!!

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes

Depois

Contagem Total de Bactérias Aeróbias/Facultativas Mesófilas

10^5 ufc/g

10^3 ufc/g

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

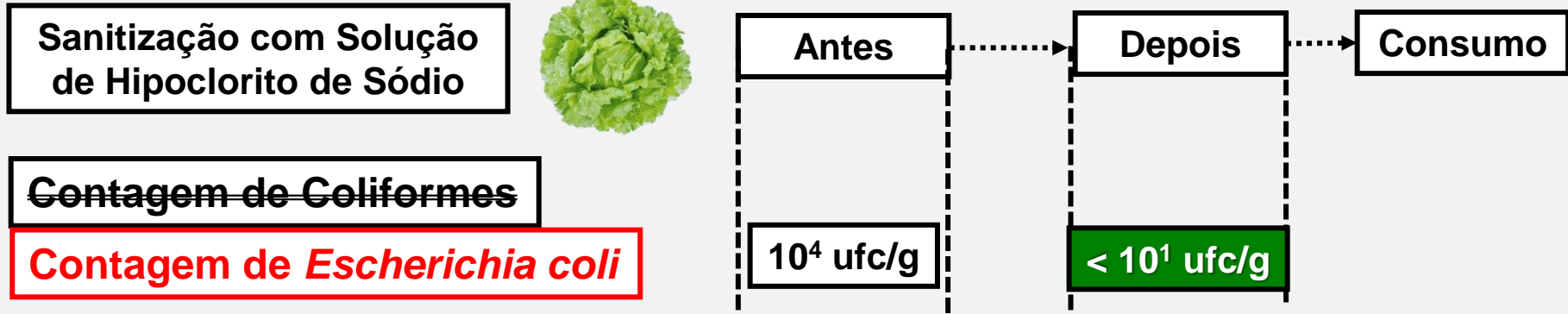
Esse alface é seguro para o consumo?

“Muito Pouco” posso afirmar!

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

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

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??



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

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

Bastonete Gram Negativo

Família Enterobacteriaceae

Bastonete Gram Negativo

Família Enterobacteriaceae

Seria um bom representante do grupo dos enteropatógenos ...

Mas o Microrganismo Indicador deve ser escolhido corretamente!??

Sanitização com Solução de Hipoclorito de Sódio



Antes

Depois

Contagem de *Escherichia coli*

~~Contagem de Coliformes~~

10⁴ ufc/g

10³ ufc/g

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

Esse alface não é seguro para o consumo?

Causará DTA nos comensais?

MICROORGANISMOS INDICADORES

Não CAUSAM DTAs

Avaliação do Risco de Ocorrência de DTAs

Quem causa DTA?

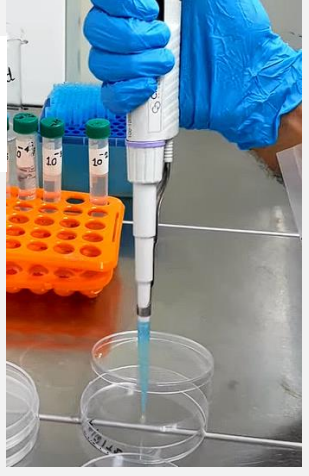
Patógenos Específicos

TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ QUANTITATIVAS (Contagem de ...)



1 mL da Amostra



Adicionar o Meio de Cultura Estéril

Incubar a 35°C por 48 h

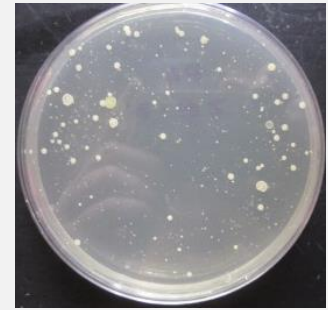


Resultado: 223 ufc/mL

Unidade Formadora de Colônia



Contar as Colônias



TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Análises Quantitativas



Enterobacteriaceae

Agar VRBG
(bile; vermelho;
violeta; glicose)



Staphylococcus aureus

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



Bacillus cereus

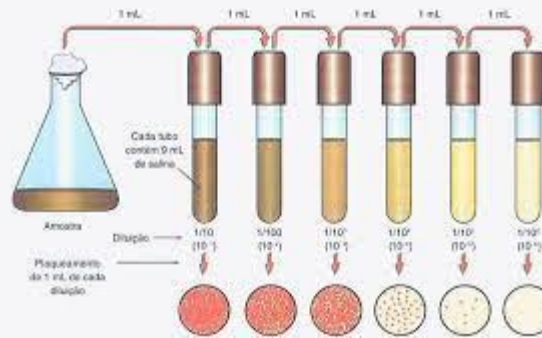
Ágar MYP
(manitol; gema de
ovo; polimixina)



Clostridium perfringens

Ágar TSC
(triptose; sulfito;
cicloserina)

Contagem empregando
diluição seriada da amostra:



TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ QUALITATIVAS (Pesquisa de ...)

Salmonella

Enriquecimento Seletivo

Pré-Enriquecimento

25 g/mL da amostra

+



225 mL de Caldo Lactosado

Incubar
35°C / 18 h

Alíquotas

0,1 mL

1 mL



Caldo Rappaport-Vassilidis Soja (RVS)

10ml



Caldo Tetrionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn)

10ml

35°C

45,5°C

Incubar por 24 h



Repicar

Ágar Hektoen Entérico

Ágar XLD (xilose; lisina; desoxicolato)



Resultado:
Presença 25 g/mL



TIPOS DE ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

→ Exemplos de Análises Qualitativas

Bactérias que determinam risco de hospitalização/morte aos doentes

Resultado:

Ausência

Presença

• Pesquisa de *Salmonella*

25 g

Salmonella spp.*Salmonella* Enteritidis*Salmonella* 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

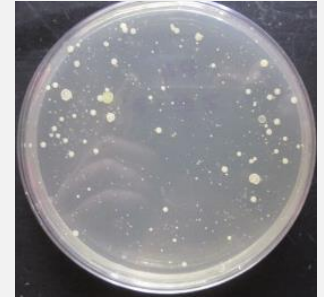
25 g

- Alimentos pronto para consumo de lactentes

MICROORGANISMOS INDICADORES

Gerais de Contaminação (Carga Microbiana)

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



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



→ Contagem de Total de Viáveis (CPP + CBL)

→ Contagem de Total de Esporulados Viáveis

→ Contagem de Total de Bactérias Lácticas Viáveis

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

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

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

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

↳ Exportação de alimentos: Como fica a globalização?

↳ **Estão em desuso!!!**

Famílias → **Enterobacteriaceae**

Gêneros → *Enterococcus* sp.

Espécies → *Escherichia coli*

Regras de TAXONOMIA são “universais”!!!

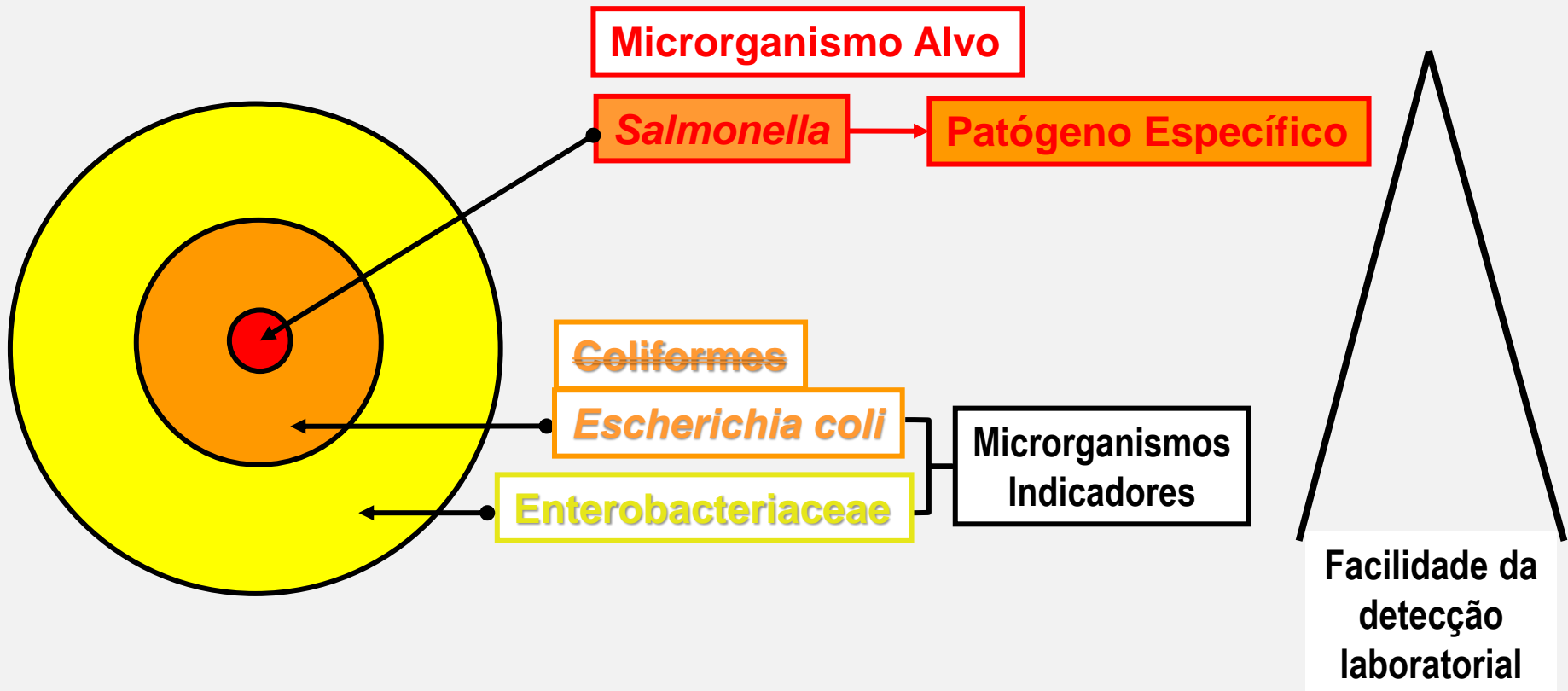
→ Devem ser encontrados na amostra com uma frequência igual ou superior ao microrganismo alvo;

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

MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

Premissas para Seleção de Microrganismos Indicadores:

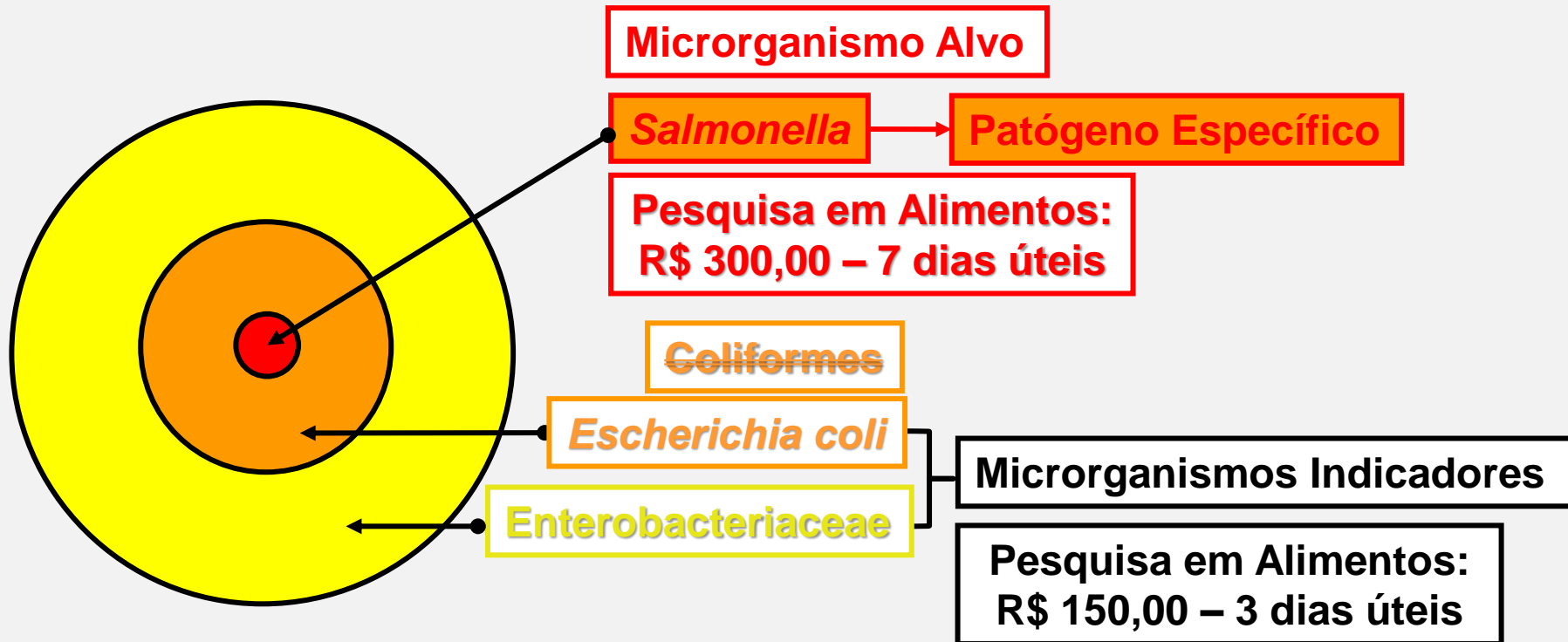
→ Devem ser encontrados na amostra com uma frequência igual ou superior ao microrganismo alvo;



MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

Premissas para Seleção de microrganismos Indicadores:

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



PRINCIPAIS MICROORGANISMOS INDICADORES

Microorganismos Indicadores de Contaminação Fecal:

→ **Grupo** dos Coliformes;

→ **Espécie** *Escherichia coli*;

→ **Família** Enterobacteriaceae;

→ **Gênero** *Enterococcus*;

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

→ **Espécie** *Clostridium perfringens*;

Ainda Empregados
no Controle de
Qualidade de Águas

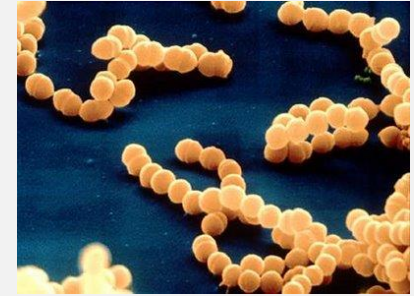
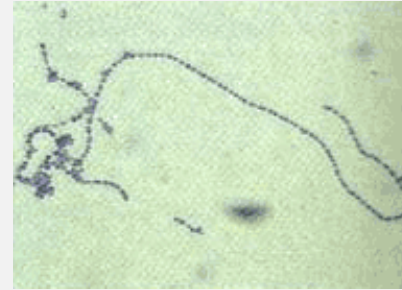
Controle de
Qualidade de
Águas Minerais

Porque tantos? Porque são tão importantes?

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

MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

→ Gênero *Enterococcus*;



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

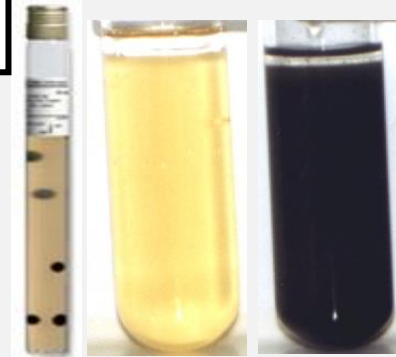
➤ Exigência das especificações de qualidade de Água do Mar;

➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

➤ Exigência das especificações de qualidade de Água de Piscina;

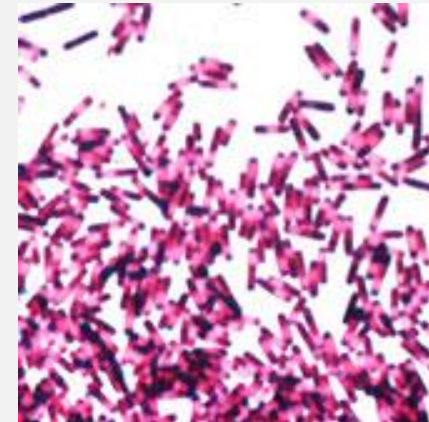
MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL

→ Clostrídios Sulfito Redutores (CSR);



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

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



➤ Exigência das especificações de qualidade de Águas Minerais;

→ Indicadores de Contaminação Fecal

➤ Exigência das especificações de qualidade de Alimentos;

→ Não é um Microrganismo Indicador

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

MICROORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA SANITÁRIA

→ Contagem de Enterobacteriaceae;

→ Contagem de *Escherichia coli*;

**Microrganismos
Indicadores**

→ **Pesquisa** de *Salmonella*;

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

→ **Pesquisa** de *Cronobacter*;

→ Contagem de *Staphylococcus aureus*;

→ Contagem de *Bacillus cereus*;

→ Contagem de *Clostridium perfringens*;

**Microrganismos
Relacionados a DTAs**

**Patógenos
Específicos**

Observação Importante:

→ Dosagem de Enterotoxinas Estafilocócicas;

→ Pesquisa da Enterotoxina do *Clostridium perfringens*;

→ Pesquisa da Neurotoxina Botulínica;

**Detecção Exige
Análises Específicas**