**FUNDAMENTOS DA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS**

**Andressa da Costa Lira Thomaz de Aquino (PAE)**

**Evelise Oliveira Telles**

A detecção de bactérias e fungos eventualmente presentes num alimento é relativamente fácil devido a capacidade que têm de se multiplicar fora do organismo vivo. Desde que a célula microbiana esteja num estado fisiológico que permita seu cultivo, a detecção pode ser feita utilizando metodologias quantitativas ou qualitativas.

As características intrínsecas e extrínsecas do alimento influenciam o estado fisiológico do microrganismo e o estado fisiológico do agente, no momento da análise, é determinante para o sucesso da sua detecção nos meios de cultura. A célula microbiana pode se encontrar:

* viável e cultivável e adaptada ao substrato
* viável e cultivável mas injuriada/estressada
* viável e não cultivável (VNC)
* morta

A microbiologia convencional permite detectar células viáveis e cultiváveis, embora uma recuperação de células injuriadas possa se fazer necessária para que seja possível sua detecção pelos métodos de cultivo.

O estado **VNC**, também conhecido como estado de dormência celular, pode ser definido como um estado fisiológico em que os micro-organismos não são capazes de crescer em meios de cultura, mas apresentam características de células vivas, inclusive virulência e patogenicidade. Fatores químicos e ambientais têm sido relatados como indutores de um estado VNC, incluindo a falta de nutrientes, temperaturas extremas, concentrações osmóticas e oxigênio. Esse estado fisiológico tem sido descrito para algumas bactérias e fungos e deve ser considerado pelo microbiologista.

Células **injuriadas** significam células que foram reversivelmente danificadas após, por exemplo, passarem por um tratamento de conservação do alimento. Esses microrganismos injuriados sobreviveram a um stress, porém algumas vias de biossíntese foram danificadas. A pesar dos microrganismos conseguirem se multiplicar no alimento eles demoram mais (aumento da fase Lag). Portanto, é preciso criar condições favoráveis (pH, Aw e Tº de incubação) para que eles tenham capacidade de reparar o dano e, assim, se multiplicar no mesmo ritmo que as células normais.

A Análise Microbiológica dos Alimentos auxilia a indústria na **avaliação** daeficácia da gestão de **higiene e qualidade** do sistema de produção-armazenamento-distribuição do alimento, **contribuindo com os sistemas de garantia da qualidade microbiológica e da inocuidade do alimento - *food hygiene e food safety.*** Isso pode se dar em três frentes:

* análises para verificar a eficácia dos controles executados pelos GMP e HACCP, numa determinada etapa da fabricação o alimento, garantido o atendimento aos critérios microbiológicos estabelecidos pela legislação ou aos padrões estabelecidos pelo controle de qualidade;
* estudos para avaliar a vida útil (*shelf-life*) do alimento: a análise temporal alimento (de um microrganismo ou grupo de microrganismo que melhor indique sua deterioração), sob diferentes condições de armazenamento;
* estudos para avaliar o risco do alimento vir a causar dano à saúde do consumidor (risco de um patógeno estar presente no alimento em níveis acima do aceitável, no momento do consumo): obtido por estudos microbiológicos sobre a cinética de sobrevivência/morte/multiplicação do patógeno naquele alimento – e assim subsidiar a empresa nas medidas para mitigação do risco.

A análise microbiológica dos alimentos também é fundamental para garantir justas práticas de comércio e preservar a saúde do consumidor e, para tanto os **Órgãos Oficiais de Fiscalização analisam o produto para verificar o atendimento aos critérios legais microbiológicos, para tomada de decisão de aceitação ou não do alimento para consumo**.

Nos casos de investigações de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) os investigadores têm como objetivo **identificar o agente etiológico, o alimento envolvido, a carga do contaminante no alimento, o local de ocorrência, as falhas que tenham contribuído com a ocorrência do surto, entre outros**.

**Metodologias para Análise Microbiológica de Alimentos**

Há uma grande variedade de métodos analíticos que o MAPA e MS indicam:

* *Bacteriological Analytical Manual* (U.S. Food and Drug Administration)
* *Official Methods for the Microbiological Analysis of Foods* (Government of Canada)
* *Compedium of Methods for Microbiological Examination of Foods* (American Public Health Association, APHA)
* *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (American Public Health Association, APHA)
* *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (American Public Health Association, APHA)
* etc

**Princípios gerais**

Os microrganismos podem ser detectados ou enumerados por meio de ensaios qualitativos e ensaios quantitativos, respectivamente. Cada ensaio segue procedimentos diferenciados, que dependem do microrganismo alvo (ou grupo de microrganismos), mas a maioria deles utiliza as mesmas técnicas culturais básicas de microbiologia.

Quando a intenção for quantificar o agente ou grupo, a primeira etapa é realizar a Diluição Decimal e Seriada da amostra (10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5, 10-6..) cujo princípio se baseia em reduzir a carga de bactérias/fungos presente no alimento em dez, cem, mil, dez mil, cem mil, milhão ... de vezes. Assim, um alimento que apresente 100.000 bactérias por ml (ou g) terá a sua população reduzida em 10x a cada diluição: de 100.000 cai para 10.000, e depois 1.000 e depois, depois 100, depois 10, depois 1 e, se a diluição continuar, a carga vai para 0,1, depois 0,01 bactérias por ml (ou g) do alimento.

As semeaduras podem ser feitas em meios de cultura líquidos, semi-sólidos ou sólidos.

Quando a intenção da análise for avaliar a presença/ausência (num determinado volume/massa de amostra), uma alíquota da amostra deverá ser colocada em caldo de enriquecimento para dar a oportunidade ao microrganismo-alvo de se recuperar, se estiver injuriado, e de aumentar em número, aumentando as chances de ser detectado naquele volume/massa de alimento analisado.

1. **Métodos de análise quantitativos**

São métodos que determinam a **quantidade** do(s) microrganismo(s) alvo na amostra, geralmente **por unidade de massa ou volume.**

**A.1.) Número Mais Provável (NMP)**

Permitedeterminar o **Número Mais Provável (NMP)** do (s) microrganismo (s) alvo na amostra, por meio da inoculação de alíquotas dessa amostra em uma série de tubos, contendo um **meio de cultura líquido** adequado ao seu crescimento.

A determinação do número mais provável de microrganismos é baseada no princípio de que subdividindo a amostra em alíquotas, algumas alíquotas vão conter microrganismos e outras não, dependendo da quantidade de microrganismos na amostra.

Após a incubação, a partir o número de alíquotas com e sem microrganismos é possível estimar, **por cálculo de probabilidade**, a densidade original dos microrganismos na amostra. O valor pode ser obtido usando fórmulas, mas para a maioria das combinações de tubos positivos e negativos que ocorrem com maior frequência, os valores já foram calculados e tabulados em **tabelas de NMP,** expressando o resultado como **NMP/g ou ml** da amostra na dependência da amostra ser sólida (g) ou líquida (ml).

A aplicação desta teoria da probabilidade pressupõe que os microrganismos estejam distribuídos ao acaso e de forma homogênea por toda a amostra. Para obter amostras homogeneizadas os tubos devem ser agitados cuidadosamente, no caso de amostras líquidas. Já no caso das amostras sólidas, este resultado só é conseguido no preparo e homogeneização da primeira diluição, tomando-se as alíquotas a partir dessa diluição.

São necessárias pelo menos 3 diluições (0,1, 0,01, 0,001 ou 10-1, 10-2, 10-3 ) da amostra com 3 tubos de diluição (denominado triplicata). Apesar dos ensaios geralmente serem realizados em triplicata é possível ainda inocular séries de 5 ou 10 tubos por diluição. Quanto maior for o número de tubos por diluição, MAIOR será a precisão da contagem.

NMP: Para quê serve? Enumerar diferentes microrganismos ou grupo de microrganismos presentes em uma amostra. Os microrganismos comumente enumerados por este método são os Coliformes Totais (30º), Coliformes Fecais/Termotolerantes (45º) e *E. coli* presentes em produtos de origem animal.

Outra aplicação da NMP: Adaptação de métodos qualitativos para quantitativos, como a contagem de *Salmonella, Listeria monocytogenes* e outros microrganismos específicos que são tradicionalmente analisados por meio de técnicas qualitativas (presença/ausência).

**A.2) Contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC)**

O PRINCÍPIO envolvido na contagem é o de que cada célula microbiana irá formar uma colônia isolada e visível, quando fixadas em um meio de cultura sólido adequado.

É MENOS SENSÍVEL do que a técnica do NMP, mas permite isolar colônias quando outros testes são necessários. Além disso, usa menos material, ocupa menos espaço.

**Técnicas de inoculação (plaqueamento):**

* **Plaqueamento em Profundidade (*Pour Plate*)**

No procedimento de plaqueamento em profundidade adiciona-se o meio de cultura fundido após a inoculação da alíquota da amostra diluída na Placa de Petri.

Limitações do procedimento: Obrigatoriedade da fusão do meio de cultura antes do uso (expõe os microrganismos ao calor do meio fundido, o que pode matá-lo), limite de detecção de 10UFC/g em produtos sólidos (adaptações do procedimento podem ser feitas para detecção de 1UFC/g) e 1UFC/ml para produtos líquidos.

Para quê são utilizados mais comumente? Ensaios de Contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de enterobactérias, clostrídios sulfito redutores, contagem de enterococos e de bactérias lácticas.

* **Plaqueamento em Superfície (*Spread Plate*)**

No procedimento de plaqueamento em superfície inocula-se a amostra e/ou suas diluições diretamente na SUPERFÍCIE do meio sólido, JÁ distribuído e solidificado nas placas.

Para quê são utilizados mais comumente? Ensaios de contagem total de aeróbios psicrotróficos, mesófilos, contagem de bolores e levedura, de *Staphylococcus aureus* e de *Bacillus cereus*.

Vantagens: Não expõe o microrganismo ao calor do meio fundido, permite a visualização de características morfológicas e diferenciais de colônias, facilita a transferência de colônias, permite a utilização de meios que não podem ser fundidos depois de prontos e não exige que meio sejam translúcidos.

Desvantagens: O volume inoculado é limitado à capacidade de absorção de líquido pelo meio de cultura, que não permite a inoculação de mais do que 0,5ml por placa. O procedimento padrão é a inoculação de 0,1ml ou 1ml/placa de cada diluição, com limite de detecção de 100 UFC/g para produtos sólidos ou 10UFC/ml para produtos líquidos.

**Leitura dos resultados do método de contagem em placas:**

Como as células microbianas muitas vezes ocorrem em agrupamentos (pares, tétrades, cachos, cadeias etc), NÃO se pode estabelecer uma relação DIRETA entre o número de colônias e o número de células microbianas presente no alimento. Essa correlação é feita entre o número de colônias e o número de **“Unidades Formadoras de Colônias” (UFC),** que podem ser tanto células individuais quanto agrupamentos característicos de certos microrganismos. O resultado é expresso em UFC/ g ou ml.

**B) Métodos de análise qualitativos**

Verificam a **presença ou ausência** do (s) microrganismo (s) alvo em uma dada quantidade da amostra, sem quantificar, com base em suas propriedades físicas, químicas ou biológicas. Todos os ensaios utilizam as mesmas técnicas microbiológicas básicas, que são o **ENRIQUECIMENTO** em um ou mais caldos específicos e o posterior **ISOLAMENTO EM MEIOS SÓLIDOS.**

Para quê são aplicados? *Salmonella, Listeria monocytogenes, Yersinia enterocolitica, Campylobacter sp., Escherichia coli O157:H7, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus e Vibrio vulnificus*.

**ENRIQUECIMENTO**

Alguns patógenos estão presentes nos alimentos em número baixo, eventualmente abaixo do limite de detecção de uma técnica quantitativa. Outras vezes as células patogênicas podem estar injuriadas, dadas as características do alimento e condições de conservação, ou mesmo podem estar em desvantagem numérica contra microbiota competitiva que dificulta sua sobrevivência e multiplicação. Células injuriadas exigem um período de tempo em condições ótimas de crescimento, para reativação das vias metabólicas responsáveis pela multiplicação.

Assim, o enriquecimento é uma etapa onde a célula tem a chance se recuperar de injúrias, se multiplicar, diluir eventuais substâncias inibidoras presentes no alimento, ganhar vantagem competitiva frente aos demais microrganismos, maximizando a chance de detectá-la caso esteja presente naquela alíquota amostral. No entanto, esta etapa faz com que se perca a relação numérica entre o que inicialmente estava presente na amostra e o que é detectado nela.

São métodos comumente utilizados quando o microrganismo pesquisado tem critério de aceitação de duas classes (presença/ausência), o que normalmente está relacionado à baixa dose infectante do agente.

**ISOLAMENTO EM MEIOS SÓLIDOS** (PLAQUEAMENTO DIFERENCIAL)

Empregam-se, em geral, meios seletivos e diferenciais para suprimir a microbiota competidora e evidenciar a célula-alvo.

**CONFIRMAÇÃO**

Fase em que se confirma a identidade da cultura isolada, através de testes que verificam características típicas do microrganismo alvo, como morfológica, bioquímica, sorológica.

Vale apontar que em alguns casos é preciso confirmar o gênero (é o caso da *Salmonella* spp., já que todos os sorotipos são patogênicos para o homem), em outros casos, é preciso confirmar a espécie (caso da *Listeria monocytogenes* que é a única, dentre as demais espécies patogênicas do gênero, que está associada à doença transmitida por alimentos) e em outros casos é preciso confirmar o sorotipo (quando apenas algumas cepas da espécie são patogênicas para o homem quando ingeridas, é o caso da *Escherichia coli* O157:H7).

**MICRORGANISMOS INDICADORES**

Grupo ou espécies de microrganismos que não representam por si só um perigo para a saúde do consumidor, mas indicam a presença de outros organismos que representam risco à saúde do consumidor.

O nível de contaminação de um indicador pode fornecer informações sobre a possibilidade de ocorrência de outros patógenos ou sobre as condições higiênicas do produto (matéria prima, processamento, manipulação armazenamento, preparo ou distribuição), podendo indicar também o potencial estado de deterioração alimento.

**1) INDICADORES GERAIS DE CONTAMINAÇÃO DO ALIMENTO**

A presença desses microrganismos fornece informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias-primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira (*shelf life*).

Os Microrganismos Aeróbios Estritos e Facultativos Viáveis - mesófilos, psicrotróficos e termófilos - são indicadores GERAIS de contaminação do alimento

**MESÓFILOS**

Os microrganismos mesófilos têm como Tº ótima de crescimento a temperatura ambiente (entre 25ºC e 40ºC, sendo a ideal 35ºC).

Segundo o International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) a contagem de Microrganismos Aeróbios Mesófilos no alimento é oindicador microbiológico de qualidade mais utilizado como indicador geral de contaminação do alimento.

 A maioria dos alimentos que apresentam números superiores à UFC/g ou ml são considerados em deterioração e, assim, são **indicadores de higiene.** Exceção feita aos alimentos fermentados e não tratados termicamente após a fermentação, onde é obrigatória uma população tão alta quanto UFC/g ou ml devido à presença dos fermentadores.

 Quase todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Portanto, uma alta contagem de mesófilos pode indicar que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem, se estivessem presentes. No entanto, NÃO são **indicadores sanitários** (apesar de serem indicadores de higiene), pois não há relação DIRETA com a presença de patógenos ou toxinas.

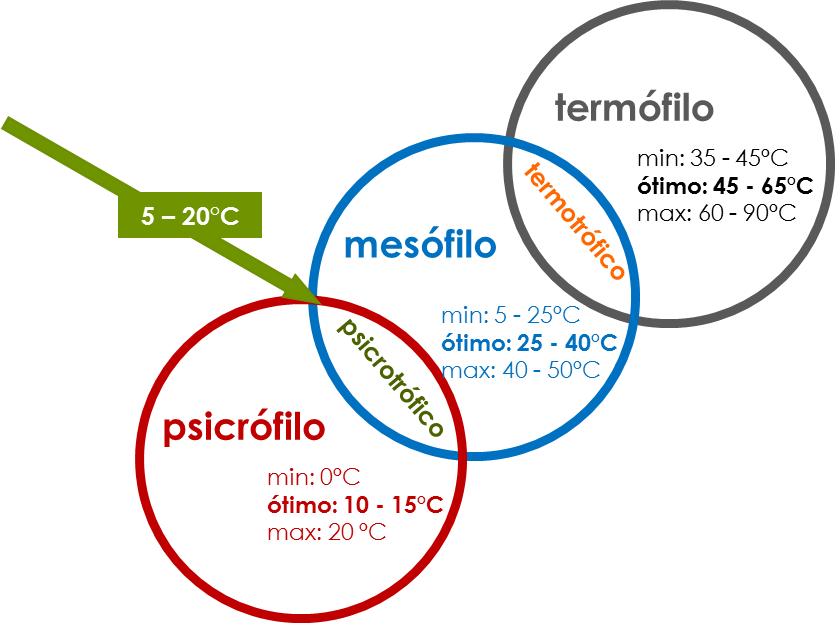
****

Figura 1. Classificação dos microrganismos em função da TºC ótima de crescimento (...FILO) e da temperatura de crescimento mesmo não sendo ótima, onde a velocidade de multiplicação é mais lenta (...TRÓFICO).

**PSICROTRÓFICOS**

Os representantes desse grupo incluem os microrganismos **Psicrófilos** e também os **Mesófilos** presentes **que tiverem capacidade de crescer em temperatura de refrigeração** (0-7ºC).

a contagem de psicrotróficos avalia o grau de deterioração de alimentos refrigerados**.**

Eles são bastante encontrados no leite e derivados. Durante a fase log eles sintetizam enzimas extracelulares (lipases, proteases) que degradam os componentes do leite. A pesar de a pasteurização eliminá-los, esse tratamento térmico tem pouco efeito sobre a atividade das enzimas termorresistentes produzidas pelas bactérias mesófilas.

Os principais psicrotróficos em alimentos (lácteos, cárneos, aves, peixes, frutos do mar) são:algumas espécies de: *Vibrio* (deteriorante de pescado), *Bacillus* (deteriorante de lácteos)*, Clostridium, Enterobacter, Yersinia, Pseudomonas* (amolecimento e deterioração de vegetais refrigerados), *Brochotrix, Lactobacillus,* membros da família *Enterobacteriaceae* (deteriorantes de alimentos embalados à vácuo ou atmostfera modificada)*, Pseudomonas, Klebsiella.*

Algumas bactérias patogênicas como *a Listeria monocytogenes, Baccilus cereus, Vibrio cholerae, Yersinia enterocolitica, algumas cepas de E. coli* enteropatogênica*, Clostridium botulinum* tipo E e tipos B e F não proteolíticos etc são aeróbias psicrótróficas.

**TERMÓFILOS**

A contagem de termófilos avalia o grau de deterioração de produtos submetidos à tratamento térmico.

A TºC **ótima** de crescimento é de 45ºC, mas eles crescem entre 45-65ºC. Alguns termófilos extremos conseguem crescer a 90ºC e o mínimo a 35ºC.

A maior parte das bactérias termófilas de importância alimentícia são dos gêneros *Bacillus e Clostridium.*

**BOLORES E LEVEDURAS**

A maioria desse grupo está presente no solo, no ar, na água, em animais, no homem e em detritos em geral.

Os bolores são AERÓBIOS ESTRITOS e, assim, crescem melhor em substratos sólidos firmes, pois na superfície têm fácil acesso ao . No entanto, algumas espécies de conseguem crescer em substratos com pequenas dissoluções absolutas de oxigênio, não necessitando do oxigênio da ATM.

Já as leveduras são ANAERÓBIAS FACULTATIVAS e, por serem unicelulares, dispersam-se mais facilmente em alimentos líquidos. Esses alimentos favorecem uma condição anaeróbica de forma que, nestas condições, as leveduras usam a via metabólica fermentativa para sua multiplicação.

* Os bolores e as leveduras são bastante resistentes a condições adversas, como pH ácido e baixa Aw.

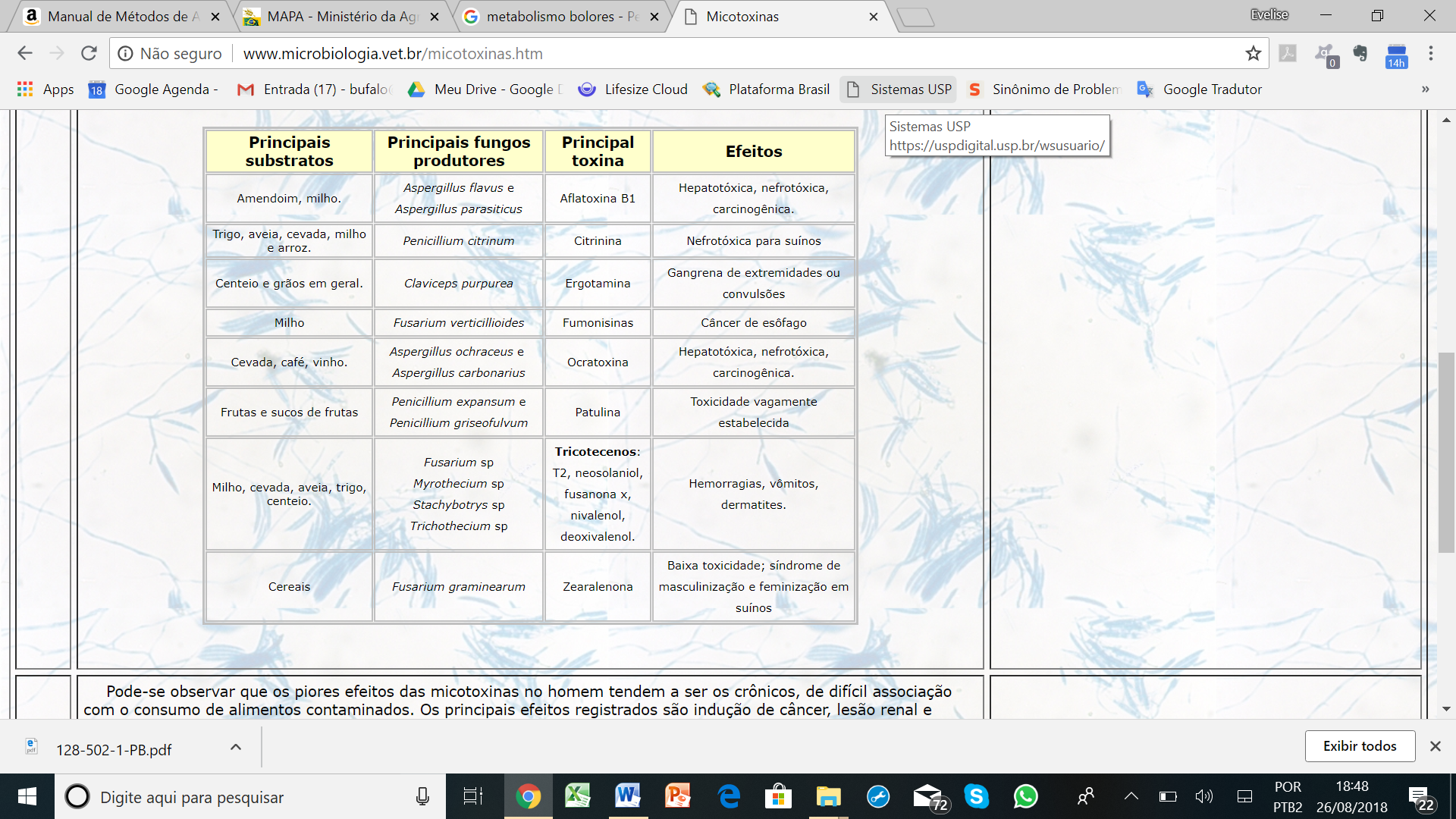
São pouco afetados pela variação de pH na faixa de 3 a 8, sendo 5 pH ótimo de crescimento. Quanto mais afastado do pH ideal mais diminuirá a velocidade de crescimento dos fungos, porém vários bolores ainda crescem abaixo de 2 e diversas leveduras abaixo de 1,5. Se houver outros fatores de inibição além do pH, como a Aw, TºC haverá maior restrição à esses microrganismos.

Quanto ao fator TºC, os fungos possuem TºC ótima de crescimento, em sua maioria, entre 25 a 28ºC, não crescendo bem nas temperaturas mesófilas (35-37ºC) e raramente na temperatura das bactérias termotolerantes (45ºC), mas podem crescer até 5ºC.

Como o crescimento de bolores e leveduras é mais lento do que o de bactérias em alimentos com baixa acidez e alta Aw, nestas condições as bactérias causarão a deterioração do alimento antes que os bolores e leveduras consigam deteriorá-lo.

No entanto, em sucos de frutas, vegetais e cereais é mais comum observar a deterioração pelos fungos => devido à baixa Aw e/ou à alta acidez.

as leveduras não estão associadas à doenças veiculadas por alimentos, mas os bolores podem produzir toxinas (micotoxinas) termoestáveis e causar intoxicação alimentar. Como evitar a contaminação por bolores é muito difícil, pois são bastante disseminados pelo ambiente, as estratégias de prevenção estão associadas a cuidados no cultivo, colheita e estocagem, evitando que haja lesão nos grãos que permita a entrada do bolor, multiplicação e produção da toxina. O controle de insetos e roedores também uma das medidas para evitar lesões superficiais que sirvam de porta de entrada do bolor no grão/fruta. O controle da temperatura e umidade de armazenamento pode contribuir reduzindo a taxa de multiplicação. Irradiação também auxilia.



**2) INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO FECAL OU DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO ALIMENTO**

**ENTEROBACTÉRIAS**

São bactérias membros da família *Enterobacteriaceae*, GRAM (-), não esporogênicos. Elas possuem metabolismo fermentativo e respiratório (aeróbias facultativas), sendo que a maioria produz gás e ácidos na fermentação da glicose e outros CHO. Não são halofílicas (resistentes ao sal).

Algumas bactérias dessa família: *Proteus, Salmonella, Serratia, Shigella, Yersinia* e as bactérias do grupo coliformes totais.

As bactérias desse grupo são mesófilas, mas há algumas bactérias que são psicrotróficas, como *Yersinia, Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Serratia* etc.

As enterobactérias estão amplamente distribuídas na natureza, como na água, no solo, frutas, verduras, legumes, carnes, ovos, animais etc.

Os microrganismos indicadores deste grupo são utilizados para indicar a condição higiênica dos processos de fabricação, porque são facilmente inativados com a sanitização, porém se o procedimento falhar, esses microrganismos podem colonizar vários nichos das plantas de processamento.

Algumas enterobactérias são também patogênicas para o homem, representando risco para a saúde pública em todo o mundo. A *Salmonella* é a mais importante, sendo os ovos e a carne das aves, ovinos e suínos as principais vias de transmissão para humanos. Outras enterobactérias patogênicas quando ingeridas num alimento ou água são *E. coli* 0157:H7 (uma cepa enterohemorrágica da *E. coli,* além da *Shigella* e *Yersinia enterocolitica* e outras.

**COLIFORMES TOTAIS**: constituído por 4 gêneros (Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella) da família Enterobacteriacea, que fermentam a lactose com produção de gás a 35ºC em 24h.

**COLIFORMES TERMOTOLERANTES OU FECAIS***:* constituído por alguns microrganismos do grupo anterior (*Escherichia coli* e algumas cepas dos outros três gêneros) que, além da fermentação da lactose com produção de gás a 35ºC também o fazem a 45ºC em 24h. Esses microrganismos fornecem informações com maior segurança sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos. Porém há microrganismos pertencentes a este grupo que não são de origem fecal, por isso, o termo coliforme fecais tem sido, gradativamente, substituído por coliformes termotolerantes.

O único representante do grupo que é habitante exclusivo do trato intestinal de animais de sangue quente e homem e, por isso, indicador de contaminação por fezes é a *Escherichia coli.*

**Alimentos frescos de Origem Animal:** Indicativo de manipulação sem cuidados de higiene e/ou armazenamento inadequado.

**Alimentos Processados:** Indicativo de processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes aquelas provenientes da matéria-prima, equipamento sujo ou manipulação sem cuidados de higiene; proliferação microbiana que poderia permitir multiplicação de microrganismos patogênicos e toxigênicos.

***STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

O *Stapylococcus aureus* é uma bactéria anaeróbia facultativa capaz de produzir toxina termoresistente nos alimentos, cuja ingestão de 1µg pode provocar os sintomas de INTOXICAÇÃO; essa dose é atingida quando a população de *S. aureus* alcança valores acima de 106UFC/g de alimento. Os sintomas são evidenciados entre 2 a 6h depois da ingestão, incluindo náuseas, vômitos, cólicas, prostação, pressão baixa, queda de temperatura. A recuperação ocorre em torno de 2 dias e as complicações ou morte são raras.

 Os *S. aureus* são frequentemente encontrados na pele, fossas nasais, garganta, cabelos de pessoas saudáveis. Portanto, os manipuladores podem ser a fonte de contaminação em alimentos mais frequente. Mas os equipamentos, utensílios e superfícies também podem estar contaminados, Assim, essa bactéria é, também, um INDICADOR da higiene durante a produção/manipulação do alimento. No caso do leite, outra fonte de contaminação do alimento é a mastite pelo *S. aureus*.

 Um alimento tratado termicamente (pasteurização, cocção), que tenha matado todas as células de *S. aureus* pode causar uma intoxicação no consumidor porque a toxina é resistente a esses tratamentos térmicos.

Os alimentos mais incriminados em casos de intoxicação alimentar por esta espécie são os que sofrem maior manipulação durante o preparo ou que ficam mais tempo expostos à TºC ambiente após o preparo, como os lácteos e derivados (como queijos), cárneos (como presuntos), aves, ovos, saladas com ovos/atum/batata/frango, molhos, sanduíche com recheio, chocolate, tortas cremosas etc.

**A temperatura ótima de crescimento da *S. aureus* é de 35-40ºC** (mesófilos), porém consegue crescer entre 7-45ºC. A produção da toxina ocorre entre 10-46ºC. **O pH ideal de desenvolvimento é entre 7-7,5**, mas ela pode se multiplicar em alimentos com pH entre 4,2 e 9,3. O *Staphylococcus* ainda consegue desenvolver-se em alimentos com valor de Aw mais baixo do que a maioria das bactérias: **0,85** e podem suportar concentração de NaCl de até 25%.

**ANÁLISES LABORATORIAIS QUALITATIVAS**

***Salmonella* spp.**

Existem 2 espécies e mais de 2500 sorotipos de *Salmonella*, todos patogênicos para o ser humano, razão pela qual os critérios de aceitação para esse agente nos alimentos refere-se ao gênero. Os sorotipos da *S. enterica* subsp. *enterica* são os principais alvos das análises de alimentos, por estarem mais frequentemente envolvidos nos surtos de DTA.

A temperatura de crescimento varia entre 5ºC e 46ºC, com ótimo entre 35-43ºC (mesófilos); o pH varia entre 3,8 e 9,5, com ótimo entre 7,0-7,5; a Aw mínima é de 0,94 (ICMSF, 1996).

 Por estarem presentes no conteúdo intestinal dos humanos e animais, a água, o solo, os insetos são facilmente contaminados e podem ser fonte de contaminação para os alimentos, superfícies de equipamentos e utensílios de fábricas e cozinhas.

A doença geralmente é veiculada por carne bovina, de aves, ovos e o leite. Além desses alimentos já foi detectada *Salmonella* em pescados, vegetais contaminados com fezes, cacau, produtos de confeitaria com cremes, molhos, coberturas preparadas com ovos crus, sem industrialização etc.

***Listeria monocytogenes***

É uma bactéria patogênica para o homem e outros animais, provocando doenças graves como encefalite, septicemia e aborto em bovinos. Muitos os mamíferos, aves, peixes, anfíbios, insetos que são, em sua maioria, portadores assintomáticos e liberam a bactéria nas fezes.

Outras espécies de *Listeria* são patogênicas para o homem, mas apenas esta espécie é causadora de DTA e, por esta razão, para avaliar a conformidade do produto é preciso identificar a espécie.

Os sintomas em humanos saudáveis podem ser confundidos com uma gripe ou outra “virose”. Em grupos de risco (gravidas, crianças, idosos, imunossuprimidos, portadores de doenças crônicas, entre outros) a doença pode ser grave, com septicemia que pode acometer diversos órgãos podendo levar a natimortalidade, aborto, encefalite, meningite etc.

Ela cresce entre 1-45ºC com TºC ótima entre 30-37ºC, ou seja, é mesófila e psicrótrófica, sendo capaz de se multiplicar rapidamente em alimentos refrigerados que foram submetidos ao calor (em temperatura sub letal para ela ou que tenha sido (re)contaminado após o tratamento térmico). Ela não é boa competidora, mas a redução ou eliminação da microbiota favorece seu crescimento.

É anaeróbia facultativa, fermenta a glicose (e outros carboidratos) com produção de ácido, mas sem produção de gás.

 Não é formadora de esporo, mas a célula apresenta grande resistência a adversidade, comparada às demais bactérias não produtoras de esporo, podendo ser encontrada no solo e no ambiente de produção de alimentos. Assim, facilmente contamina alimentos, água e planta processadora de alimentos.

***REFEREÊNCIAS:***

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA. **Métodos Analíticos para o Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/poa/Manualdemtodosoficiaisparaanlisedealimentosdeorigemanimal2017.pdf Acesso em: 10 ago. 2018

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF **Microbiologia dos Alimentos**, Atheneu, 1996.

ICMSF **Organismos de los alimentos** 1 – Tecnicas de analisis microbiologico. ACRIBIA, Zaragoza, s.d.

HARRIGAN, W. F. ***Laboratory Methods in Food Microbiology,*** 3ªedição, 1998**.**

SILVA, N.;et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**, 4ª edição, VARELA, São Paulo, 2010.