

VPS-518
HIGIENE E SEGURANÇA ALIMENTAR

Fundamentos de análises
microbiológicas dos
alimentos

Daniele C. Raimundo
Doutoranda Lab. Higiene Alimentar
danieleraimundo@uol.com.br

INTRODUÇÃO

- análises laboratoriais
- microrganismos indicadores
- microrganismos patogênicos



ANÁLISES LABORATORIAIS

- métodos convencionais
- métodos rápidos
- amostragem
- interpretação de resultados
- legislação



Plano de amostragem

Limites estatísticos de confiança de amostragem

Incidência % de limites superiores estabelecidos numa população	Número mínimo de amostras necessárias para detectar um caso de LSE com nível de segurança		
	90%	95%	99%
35	6	7	11
30	7	9	13
25	9	11	17
20	11	14	21
15	15	19	29
10	22	29	44
5	45	59	90
1	230	299	459
0.5	460	598	919
0.1	2302	2995	4603

Base: Codex Alimentarius

PARÂMETROS PARA INTERPRETAR

- n = número de amostras analisadas
- m = número máximo aceitável para dado microrganismo
- M = número máximo tolerável para c amostras
- c = número de amostras que podem apresentar-se entre m e M

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M

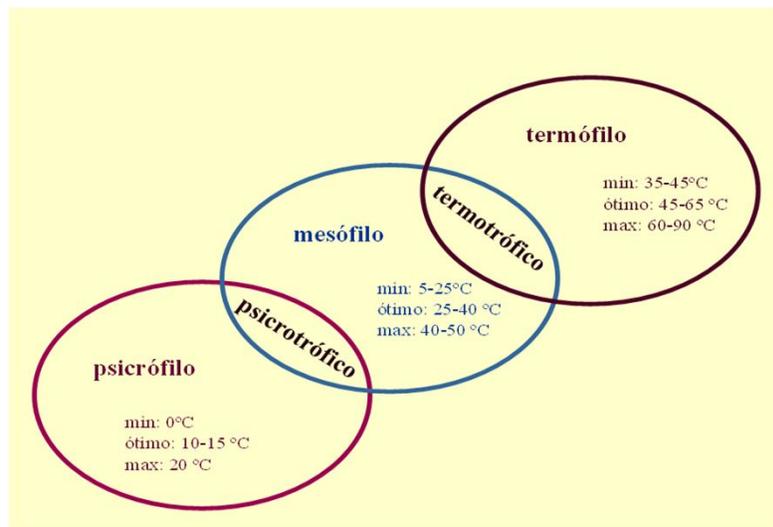
8. B- Queijos

a) de baixa umidade:	Coliformes a 45°C/g	5×10^2	5	2	10^2	5×10^2
	Estaf.coag.positiva./g	10^3	5	2	10^2	10^3
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
	Coliformes a 45°C/g	10^3	5	2	5×10^2	10^3

MICROORGANISMOS INDICADORES

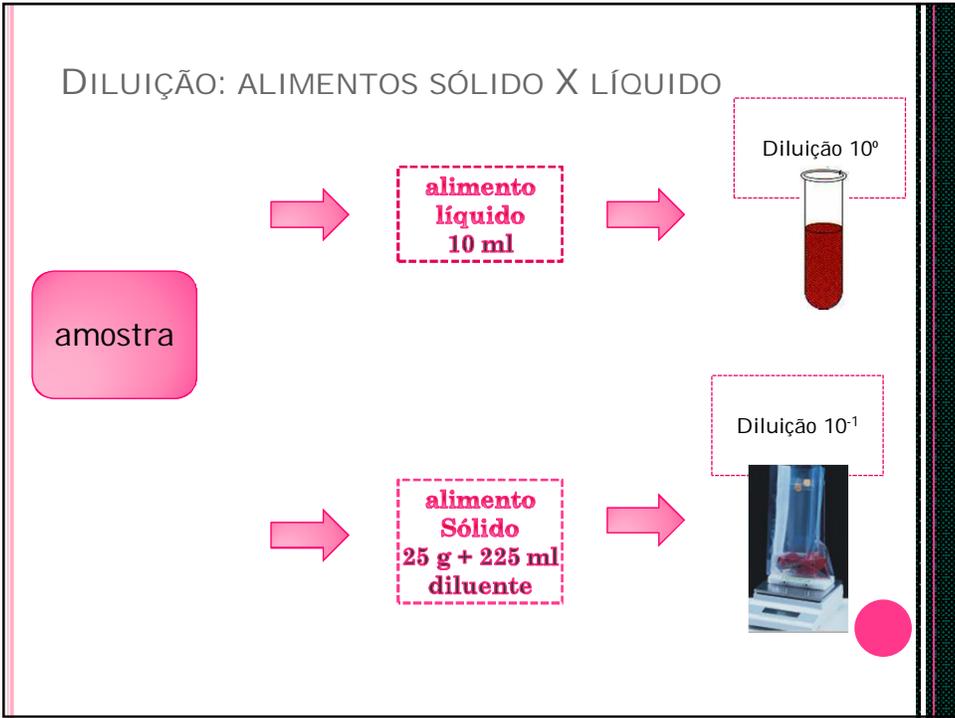
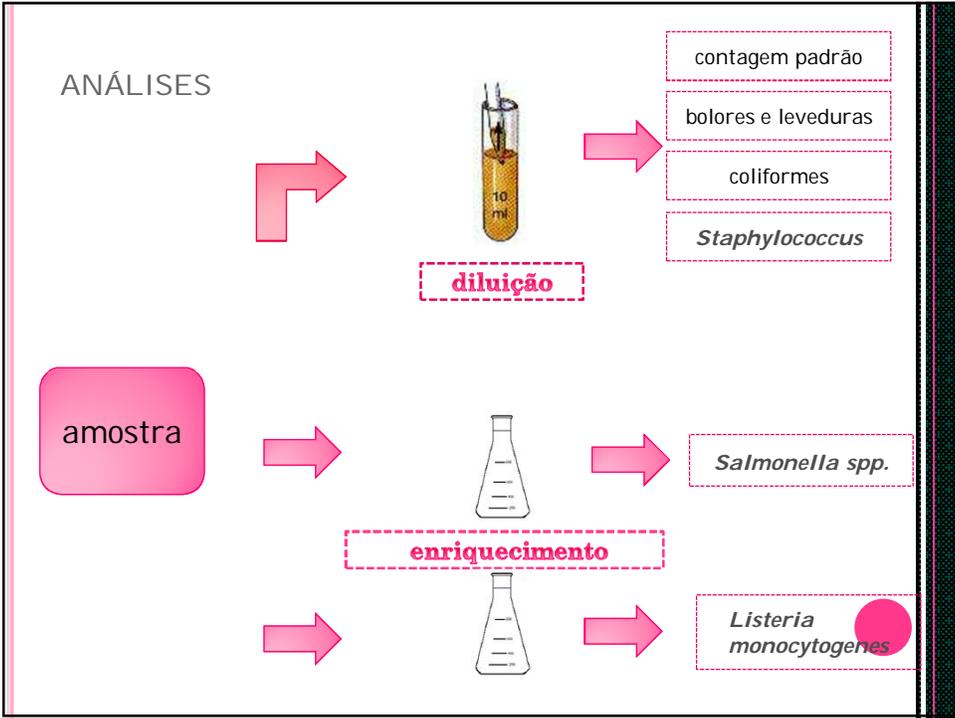
- Microrganismos Aeróbios Estritos e Facultativos Viáveis
 - mesófilos (Contagem Padrão em Placas)
 - psicrotróficos
 - termófilos
- Microrganismos Anaeróbios
- Bolores e Leveduras
- Coliformes Totais (família: *Enterobacteriaceae*; gêneros *Escherichia*, *Klebsiela*, *Enterobacter*, *Citrobacter*)
- Coliformes Fecais (*E. coli* e cepas dos outros gêneros)
- *Staphylococcus* coagulase positivo

QUANTO À TEMPERATURA DE CRESCIMENTO



BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

- *Salmonella* spp.
- *Listeria monocytogenes*



TÉCNICA DE DILUIÇÃO SERIADA

amostras líquidas

1 mL
1 mL
1 mL
1 mL

10 mL
9 mL
9 mL
9 mL
9 mL

amostra 10^0	diluição (1:10) 10^{-1}	diluição (1:100) 10^{-2}	diluição (1:1.000) 10^{-3}	diluição (1:10.000) 10^{-4}
--------------------------	--	---	---	--

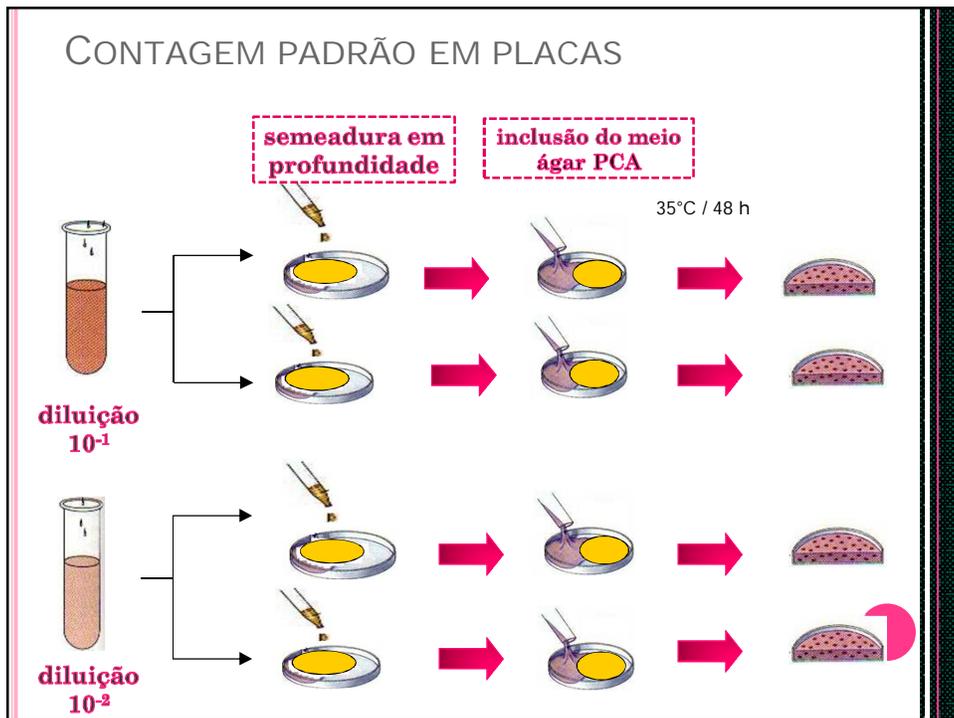
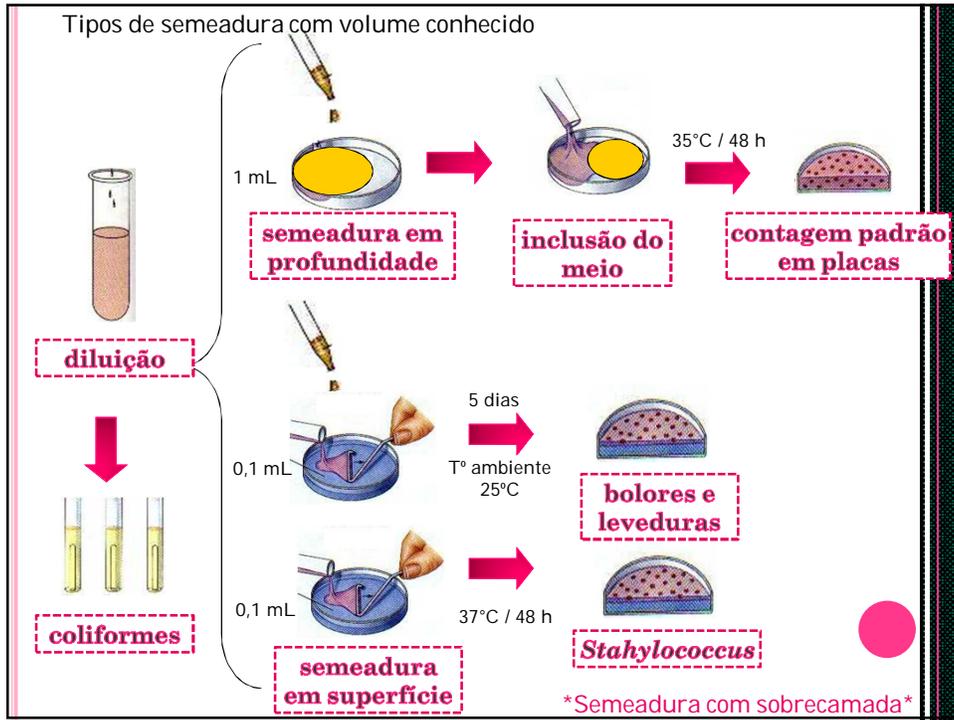
TÉCNICA DE DILUIÇÃO SERIADA

amostras sólidas

1 mL
1 mL
1 mL

9 mL
9 mL
9 mL

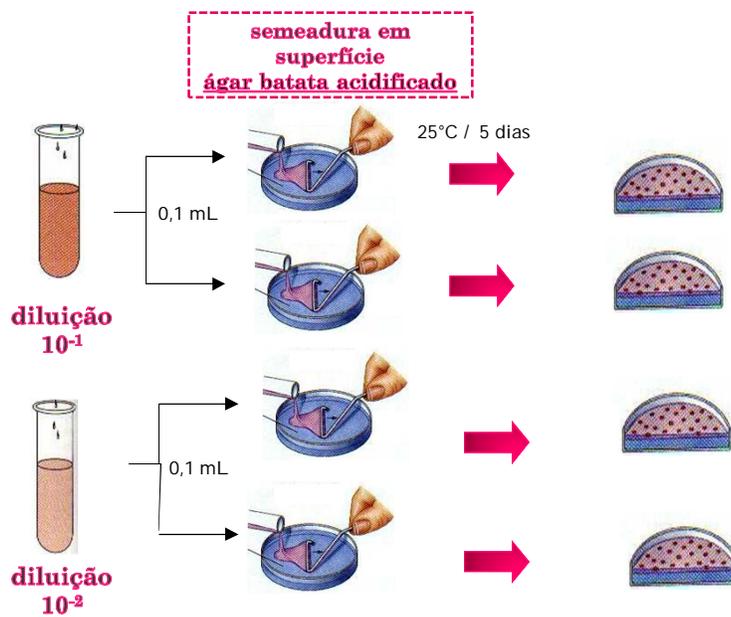
amostra 25g +225mL água peptonada diluição (1:10) 10^{-1} homogeneização	diluição (1:100) 10^{-2}	diluição (1:1.000) 10^{-3}	diluição (1:10.000) 10^{-4}
--	---	---	--



RESULTADOS: CONTAGEM PADRÃO

- eleger a melhor diluição que se encontra dentro do parâmetro (25 - 250)
- contar as colônias em cada placa
- fazer a média aritmética das placas
- multiplicar pelo inverso da diluição
- resultado em UFC/g ou mL (1 dígito antes e 1 dígito depois da vírgula)

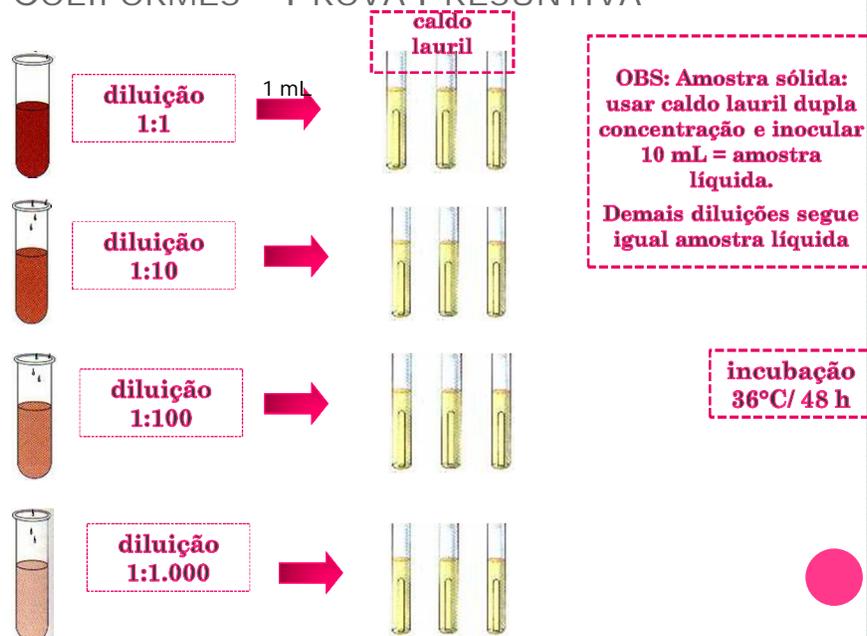
CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS

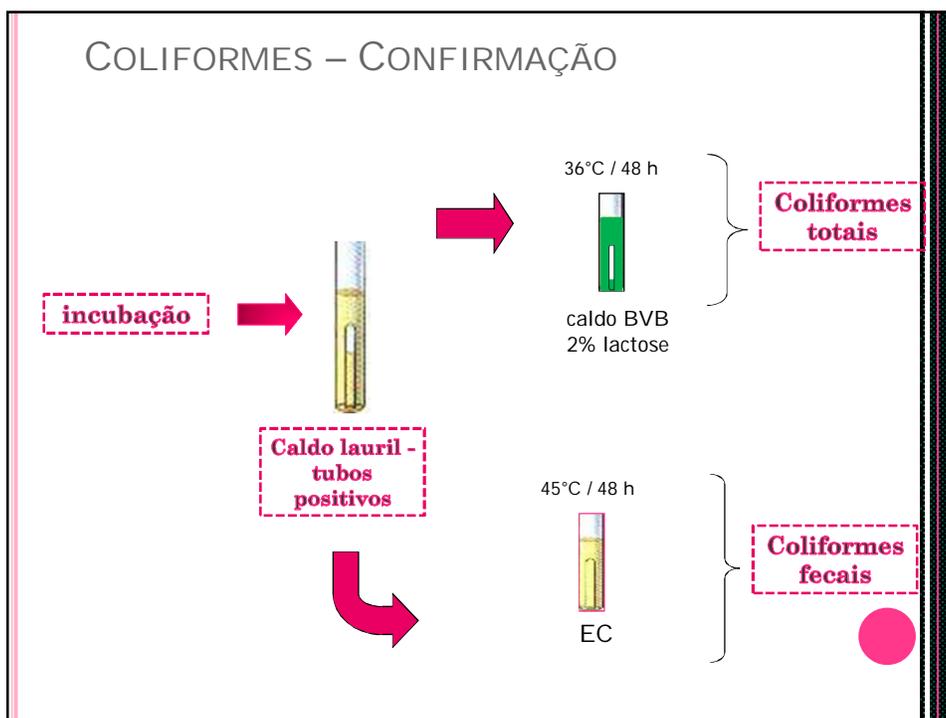


RESULTADOS: BOLOR E LEVEDURA

- eleger a melhor diluição que se encontra dentro do parâmetro (15 - 150)
- contar as colônias em cada placa
- fazer a média aritmética das placas
- multiplicar pelo inverso da diluição e fator correção do volume semeado
- resultado em UFC/g ou mL (1 dígito antes e 1 dígito depois da vírgula)

COLIFORMES – PROVA PRESUNTIVA





COLIFORMES - RESULTADOS

- Escolher uma seqüência de 3 diluições, iniciando com a máxima contaminação observada; se possível incluir uma diluição em que os 3 tubos são negativos
 - Consultar o resultado obtido na tabela de NMP
 - Multiplicar o valor obtido pelo fator da diluição
 - Expressar o resultado em NMP/g ou mL
- A pink circle is located at the bottom right of the slide.

SEQÜÊNCIA DE TUBOS PARA NMP

diluições	1	0,1	0,001	0,0001	0,00001
Presuntivo	3	3	3	2	1
C. totais	3	3	3	2	1
C. termotolerantes	3	3	2	1	0

Exemplos

Coliformes totais:

Seqüência dos tubos: 3-2-1

Valor na tabela NMP: 15

$15 \times 100 = 1,5 \times 10^3$ NMP/g

Coliformes fecais:

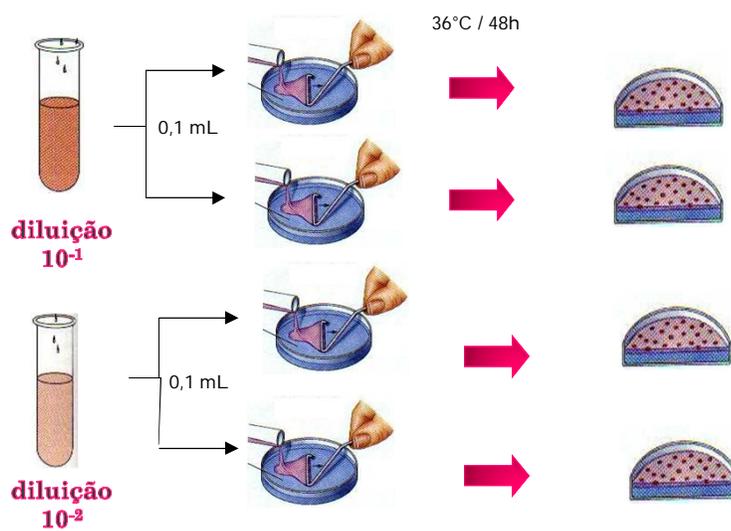
Seqüência dos tubos: 3-2-1

Valor na tabela NMP: 15

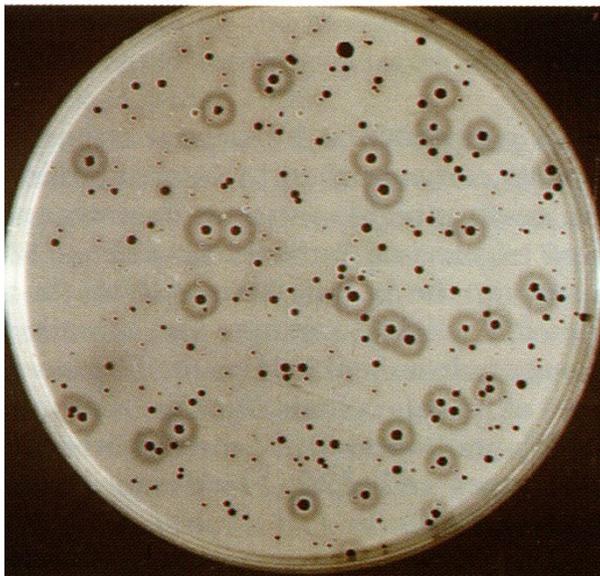
$15 \times 10 = 1,5 \times 10^2$ NMP/g

CONTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASE POSITIVO

semeadura em superfície
ágar Baird Parker



CONTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS*



STAPHYLOCOCCUS - RESULTADOS

- escolher a melhor diluição para contagem (20 - 200)
- contar as colônias típicas e atípicas em cada placa e fazer média aritmética
- selecionar 5 colônias de cada tipo (Típica e Atípica) fazer o teste de coagulase

Coagulase

tubos com BHI + plasma de coelho

observação da coagulação
35°C/ 6-24 h

5 tubos de BHI
uma colônia por tubo
35°C/ 24 h

- coágulos 1+ e 2+: reação duvidosa => testes complet. catalase, gram e termonuclease: reação positiva se +,+,+
- coágulos 3+ e 4+: reação positiva

COAGULASE: RESULTADOS

Colônias Típicas

Média **Contada**: 20 colônias

5 **repicadas** / 4 **confirmadas**

Colônias atípicas

Média **Contada**: 10 colônias

5 **repicadas** / 2 **confirmadas**

$$R = (C \times c \times d) / r$$

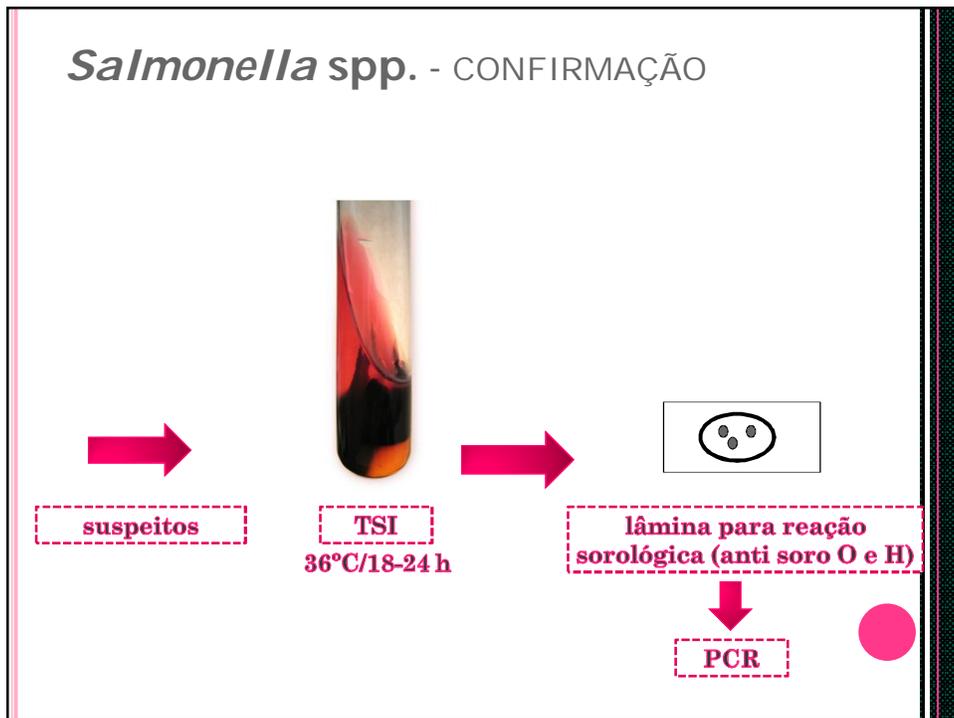
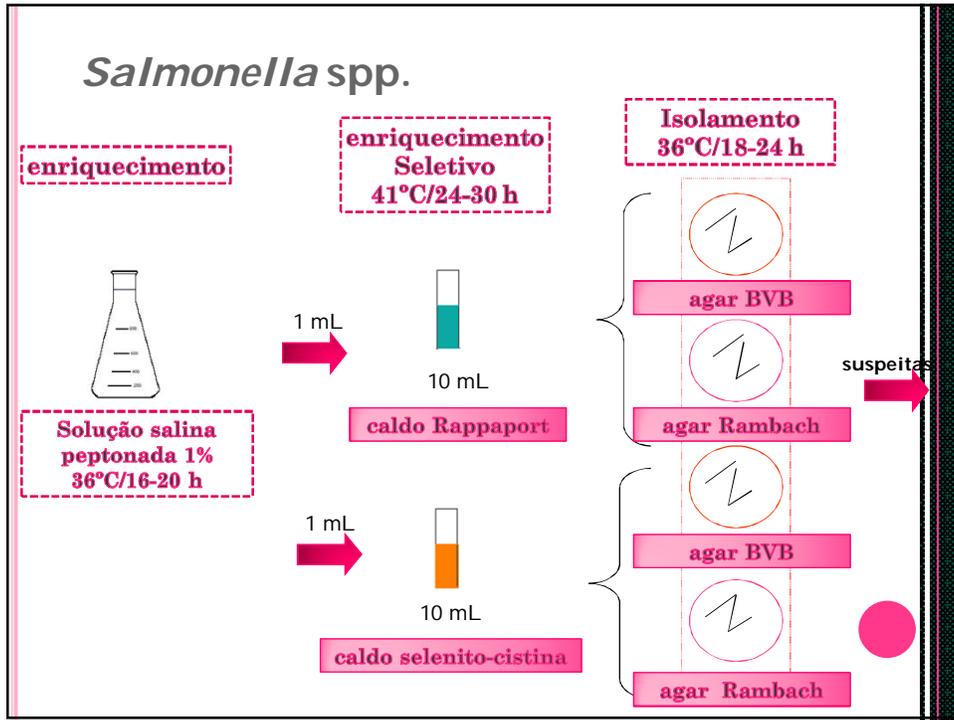
$$R_t = (20 \times 4 \times 100) / 5$$

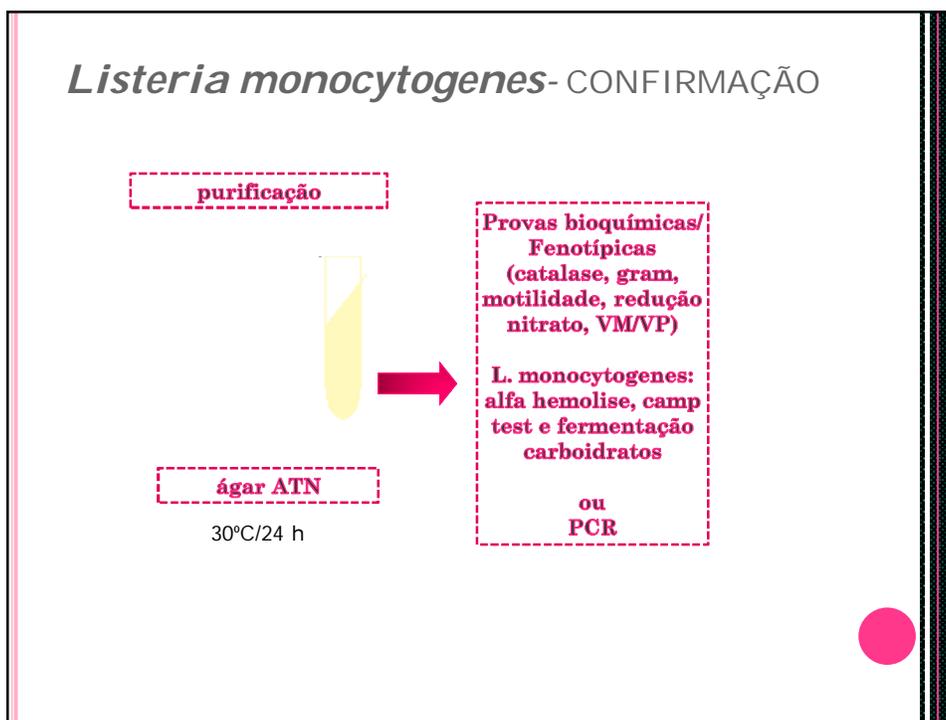
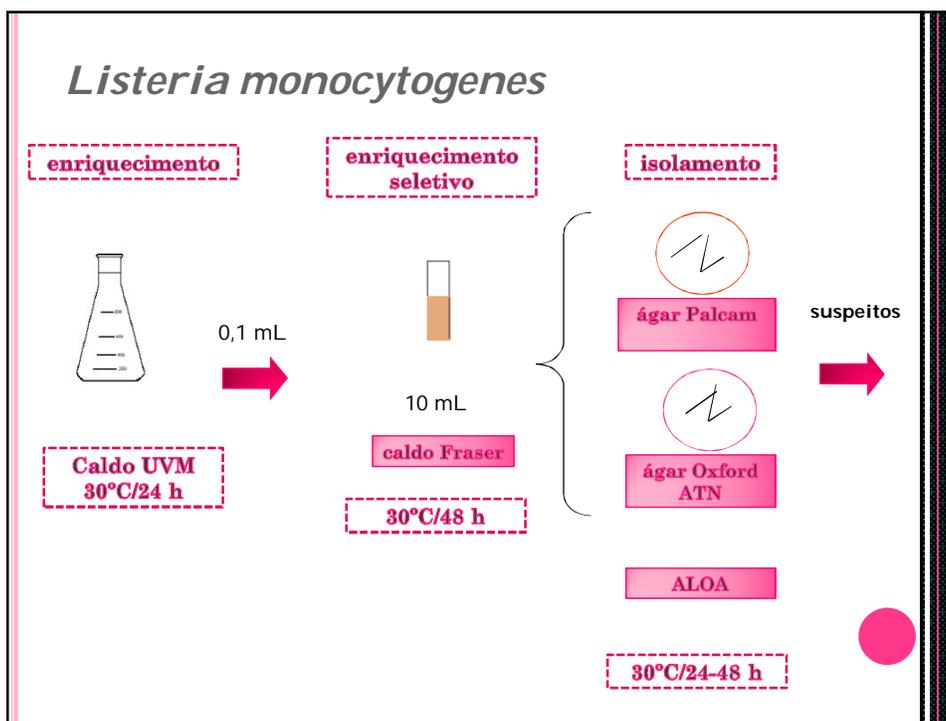
$$R_t = 1600$$

$$R_a = (10 \times 2 \times 100) / 5$$

$$R_a = 400$$

$$(R_t + R_a) \times 10 = 2000 \times 10 = 2,0 \times 10^4 \text{ UFC/g ou mL}$$





RESULTADOS

- Microrg. aerób. estr. fac. viáveis
 - Bolor e levedura
 - *Staphylococcus* coagulase positiva
 - Coliformes totais
 - Coliformes fecais
 - *Salmonella* spp
 - *Listeria monocytogenes*
- } UFC /g ou mL
- } NMP / g ou mL
- } Presença ou Ausência em 25 g ou mL

