

## Retomando...

- MULTIPLICAÇÃO MICROBIANA
- TEMPO DE GERAÇÃO X FATORES
- FASES DO CICLO DE MULTIPLICAÇÃO MICROBIANA

## Retomando...

- FATORES INTRÍNSECOS:
  - ✓ Atividade de água ( $a_w$ )
  - ✓ Potencial hidrogeniônico (pH)
  - ✓ Potencial redox (Eh)
  - ✓ Composição química (nutrientes)
  - ✓ Fatores antimicrobianos naturais
  - ✓ Estruturas biológicas
  - ✓ Interações entre micro-organismos (= fator implícito)

## Retomando...

- FATORES EXTRÍNSECOS:
  - ✓ Temperatura
  - ✓ UR
  - ✓ ATM envolvendo o alimento

TEORIA DOS OBSTÁCULOS

Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição

## Microrganismos indicadores

Dra. Juliana Galvão

2024

## Microrganismos indicadores

### O que são?

### O que são?

São grupos de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre:

- ✓ Ocorrência de contaminação de origem fecal;
- ✓ Provável presença de patógenos;
- ✓ Potencial deterioração do alimento;
- ✓ Condições higiênicas sanitárias inadequadas (falhas durante o processamento ou armazenamento).

### Critérios para definição

Alguns critérios devem ser considerados na definição de um microrganismo ou grupo de microrganismos como indicadores:

- Ser de "rápida" e fácil detecção/contagem;
- Ser facilmente distinguível de outros microrganismos presentes no alimento;
- Não deve estar presente como contaminante natural do alimento;
- Ter uma história de associações constantes com o patógeno cuja presença visa indicar;

### Critérios para definição

- Possuir características e taxas de multiplicação equivalentes às do patógeno;
- Ter velocidade de morte que seja semelhante à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno;
- Estar ausente nos alimentos que estão livres do patógeno, ou estar presente em quantidades mínimas.

No entanto, nem sempre todas essas características são observadas.

## Quais são os microrganismos indicadores?

## Indicadores gerais de contaminação dos alimentos

### Indicadores gerais de contaminação

- São grupos de microrganismos que, quando presentes em números elevados nos alimentos, poderão causar a deterioração e/ou redução da vida de prateleira.
- Fornecem informações gerais sobre as condições durante o processamento do alimento.
- Baseia-se na enumeração de bactérias viáveis que se desenvolvem em placas ou tubos com meio de cultura, nos quais foram inoculadas quantidades previamente conhecidas do alimento diluído, seguido de incubação sob determinadas condições ambientais.

### Indicadores gerais de contaminação

#### Enumeração (contagem total) de bactérias

- Bactérias MESÓFILAS: ótimo entre 25 e 40 °C
- Bactérias PSICROTRÓFICAS (0-7 °C) ou PSICRÓFILAS (10-15 °C)
- Bactérias TERMÓFILAS: ótimo entre 45 e 65 °C



### Indicadores gerais de contaminação

#### Contagem total de bactérias MESÓFILAS

A contagem elevada desse grupo de bactérias nos alimentos pode indicar:

- Alimento insalubre para consumo (exceto fermentados);
- Uso de matéria-prima contaminada, processamento insatisfatório ou armazenamento inadequado;
- Houve condições para que os patógenos se multiplicassem (temperatura favorável);
- No caso de alimentos perecíveis, pode indicar abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura.

### Indicadores gerais de contaminação

#### Contagem total de bactérias MESÓFILAS

Mesmo que os patógenos estejam ausentes e que não tenham ocorrido alterações nas condições organolépticas do alimento, um número elevado de microrganismos pode indicar insalubridade do alimento.

Quando deteriorados, a maioria dos alimentos apresenta números superiores a  $10^6$  UFC/g do alimento.

Muitas bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas.

Portanto, uma alta contagem de mesófilos indica que houve condições para a multiplicação de patógenos.

### Indicadores gerais de contaminação

#### Contagem total de bactérias PSICOTRÓFICAS/PSICRÓFILAS e termófilas

Indicam o grau de deterioração de alimentos refrigerados.

#### Contagem total de bactérias ANAERÓBIAS

A presença de anaeróbios indica se houveram condições favoráveis para a multiplicação de microrganismos anaeróbios.

### Indicadores gerais de contaminação

#### Contagem de BOLORES E LEVEDURAS

Os bolores e leveduras constituem um grupo de microrganismos, sendo a maioria originária do solo ou do ar.

Seu desenvolvimento é mais lento do que o de bactérias em alimentos de baixa acidez e alta atividade de água. Portanto, dificilmente serão responsáveis pela deterioração desses alimentos.

No entanto, em alimentos ácidos e de baixa atividade de água, o crescimento de fungos é favorecido (são + resistentes), provocando deterioração com grande prejuízo econômico em hortifrutícolas.

### Indicadores gerais de contaminação



### Indicadores gerais de contaminação

#### Contagem de BOLORES E LEVEDURAS

A presença desses microrganismos torna-se um perigo à saúde devido a produção de micotoxinas pelos bolores = micotoxicoses.

Exemplos:

- Aflatoxinas (milho, amendoim)
- Fumonisina (milho)
- Ocratoxinas (milho, cereais, grãos de café)
- Zearalenona (milho, cevada, trigo)

## Indicadores gerais de contaminação

### Contagem de BOLORES E LEVEDURAS

A contagem elevada de bolores e leveduras nos alimentos pode indicar:

- Matéria-prima contaminada ou mal selecionada;
- Limpeza inadequada (geralmente acúmulo de umidade);
- Produtos desidratados - aumento de atividade de água em alguma etapa do processamento / armazenamento.



## Indicadores gerais de contaminação

### Contagem de BOLORES E LEVEDURAS

Algumas medidas podem ser adotadas na tentativa de reduzir ou eliminar a contaminação fúngica:

- Boas práticas de higiene = redução da carga de esporos;
- Menor tempo possível entre colheita e disposição ao consumidor;
- Eliminar ou reduzir o contato com o ar (esporos);
- Conservantes (ácidos, sorbatos, óleos essenciais) - retardar o crescimento fúngico;
- Tratamento térmico (calor).

## Indicadores de contaminação fecal ou da qualidade higiênico-sanitária

## Coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

### Histórico

*Escherichia coli* (*E. coli*) como indicador fecal = bactéria oriunda do trato intestinal de humanos e animais (endotérmicos).

O indicador ideal de *contaminação fecal* deveria preencher também este requisitos:

- ter como habitat exclusivo o trato intestinal do homem e outros animais;
- ocorrer em números altos nas fezes;
- apresentar alta resistência ao ambiente extra enteral;
- haver técnicas rápidas, simples e precisas para a sua detecção e/ou contagem.

### Coliformes

#### Coliformes totais

- ✓ Grupo composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*;
- ✓ São gram-negativos e não formadores de esporos;
- ✓ Capazes de fermentar a lactose com produção de gás a 35-37 °C por 24-48 h;
- ✓ Presença de coliformes totais no alimento - **NÃO** indica necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos.

## Coliformes

### Coliformes totais

| Gêneros             | Habitat                                       |
|---------------------|---|
| <i>Escherichia</i>  | Trato intestinal do homem e animais (= fezes) |
| <i>Enterobacter</i> | Fezes, vegetais e solo                        |
| <i>Citrobacter</i>  | Fezes, vegetais e solo                        |
| <i>Klebsiella</i>   | Fezes, vegetais e solo                        |

## Coliformes

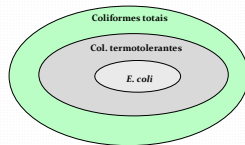
### Coliformes termotolerantes

- ✓ Microorganismos pertencentes a esse grupo correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubados à temperatura de 44-45 °C.
- ✓ Nessas condições ~90% das culturas são *E. coli*.
- ✓ Terminologia: coliformes fecais - coliformes termotolerantes - coliformes a 45 °C.

## Coliformes

### Coliformes termotolerantes e *E. coli*

- ✓ Portanto, a pesquisa de coliformes termotolerantes ou de *E. coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos.



## Coliformes

### ATENÇÃO

- ✓ Coliformes não são causadores de doenças.
- ✓ A porcentagem de cepas de *E. coli* patogênicas é pequena em comparação às não patogênicas
- ✓ Presença de *E. coli* em alimentos - risco (patógenos entéricos poderiam estar presentes).

## Coliformes

### ATENÇÃO

Não detecção (resultados negativos) **NÃO** significa **AUSÊNCIA!**

- Amostragem e preparo da amostra.
- Adequação e sensibilidade do método.

## Enterococos

## Enterococos

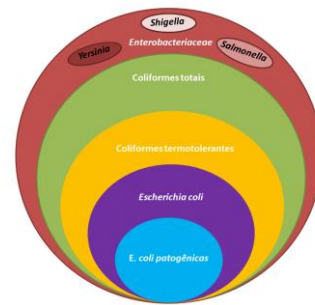
- *Enterococcus faecalis* - associado com o trato intestinal humano
- *Enterococcus faecium* - trato intestinal de humanos e animais
- Apresenta restrições como indicadores de contaminação fecal
- são encontrados em outros ambientes e apresentam sobrevivência maior do que os enteropatógenos.
- Sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas
- ou exposição do alimento a condições que permitiram a multiplicação de micro-organismos indesejáveis.

## Enterobacteriaceae

## Enterobacteriaceae

- ✓ Abrange muitos gêneros
- ✓ Incluindo aqueles que fermentam lactose (ex. *E. coli*) e os que não a fermentam lactose (ex. *Salmonella*).
- ✓ Tendência geral à descontinuação do uso de coliformes como indicadores da possível presença de patógenos entéricos em favor do uso das *Enterobacteriaceae*.

## Enterobacteriaceae



## Enterobacteriaceae

**Alimentos frescos de origem animal:** números elevados de *Enterobacteriaceae* pode indicar manipulação sem cuidados de higiene e/ou armazenamento inadequado.

**Alimentos processados:** números elevados de coliformes ou de *Enterobacteriaceae* indica:

- processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento;
- proliferação microbiana que poderia permitir a multiplicação de patógenos.

## Outros indicadores

## Outros indicadores

- *Staphylococcus aureus* (estafilococos coagulase positiva):  
Número elevado - problemas na manipulação/sanitização questionável -  
risco de ENTEROTOXINA!!

- Bactérias termófilas esporuladas (ex. Clostrídios)  
Eficiência de processos.

## Padrões microbiológicos para alimentos

## Padrões microbiológicos para alimentos

Qualidade do alimento depende de:

- Características organolépticas;
- Características físicas;
- Características químicas;
- Características nutricionais;
- Características microbiológicas.

39

## Padrões microbiológicos para alimentos

Resolução - RDC nº 724 de 01 de julho de 2022

Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação.

Instrução Normativa nº 161 de 01 de julho de 2022

Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos.

| B. FRUTAS E DERIVADOS  |                                    |    |   |                 |                 |
|--|------------------------------------|----|---|-----------------|-----------------|
| Categorias Específicas   | Micro-organismo/Tossina/Metabólito | n  | c | m               | M               |
| a) "In natura", inteiras, selecionadas ou não  | Salmonella/25g                     | 5  | 0 | Aus             | -               |
|  | Escherichia coli/g                 | 5  | 2 | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>7</sup> |
| b) Preparadas (inteiras, dessecadas ou fracionadas), sanitizadas, refrigeradas ou congeladas | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
|  | Escherichia coli/g                 | 5  | 2 | 10              | 10 <sup>7</sup> |
| c) Branqueadas ou cozidas  | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
|  | Enterobacteriaceae/g               | 5  | 1 | 10 <sup>6</sup> | 10 <sup>7</sup> |
| d) Secas, desidratadas ou liofilizadas   | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
|  | Escherichia coli/g                 | 5  | 2 | 10              | 10 <sup>7</sup> |
|  | Bifidus e lactobacilos/g           | 5  | 1 | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> |
|  | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
| e) Polpas e purês  | Escherichia coli/g                 | 5  | 2 | 10              | 10 <sup>7</sup> |
|  | Bifidus e lactobacilos/g           | 5  | 1 | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> |
| f) Doces em pasta ou massa e similares, incluindo geleias e doces em calda                   | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
|  | Enterobacteriaceae/g               | 5  | 1 | 10              | 10 <sup>7</sup> |
| g) Frutos ou assados, com ou sem adição de outros ingredientes                               | Bifidus e lactobacilos/g           | 5  | 1 | 10 <sup>7</sup> | 10 <sup>8</sup> |
|  | Salmonella/25g                     | 10 | 0 | Aus             | -               |
|  | Escherichia coli/g                 | 5  | 2 | 10              | 20              |

## Referências

DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press, 2007. 1038p.

FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 602p.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182p.

JAY, J.M., LOESSNER, M.J., GOLDEN, D.A. *Modern food microbiology*, 7th ed. New York: Springer, 2005. 790p.

MONTVILLE, T.J., MATTHEWS, K.R. *Food microbiology: an introduction*, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2008. 427p.