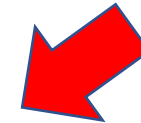


2. Emprego de microrganismos em Processos Biotecnológicos Industriais

1. Indústria de Alimentos e Bebidas

A) Visão geral:

- Produção de alimentos (pães, queijos, fermentados embutidos)
- Produção de bebidas,
- Produção de “Single Cell Protein” (SCP) e de Suplementos alimentares derivados
- Produção de Aditivos para alimentos: Conservantes naturais, Emulsificantes, Aromas, Essências, Espessantes
- Probióticos e Prebióticos, iogurte
- Produção de alimentos funcionais (Nutracêuticos)



B) Fungos e Micotoxinas e outros problemas do

Lado Negativo – Os microrganismos podem contaminar alimentos e bebidas e tornando-os veículos transmissores de doenças

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Interação dos Microrganismos e os Alimentos

Lado Positivo: As atividades microbianas são essenciais para a produção de alguns alimentos, como aqueles fermentados com embutidos, iogurte, etc

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Os alimentos que consumimos, estejam eles frescos, prontos ou em conserva, raramente são estéreis. Em vez disso, eles quase sempre se encontram contaminados com diversos microrganismos associados à sua **deterioração** e ocasionalmente com **patógenos**. Assim, a maioria dos microrganismos encontrados são indesejados e diminuem a qualidade ou segurança (ou ambos) do produto

Fonte: Microbiologia de Brock, Cap 31. 14ª. Edição, 2014. (copie o link para abrir o item do livro): https://books.google.com.br/books?id=fk_WCwAAQBAJ&pg=PA909&lpg=PA909&dq=Os+alimentos+como+ve%C3%ADculo+de+transmiss%C3%ADo+de+doen%C3%ADas.+Brock&source=bl&ots=hoyukexSic&sig=ACfU3U3FaVwpP7etwNJ1FJLVt3aaZgGm3w&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKEwie2q21wovpAhWyJrkGHV6vCYcQ6AEwAXoECAoQAAQ#v=onepage&q=Os%20alimentos%20como%20ve%C3%ADculo%20de%20transmiss%C3%ADo%20de%20doen%C3%ADas.%20Brock&f=false

A Deterioração alimentar

é definida como qualquer alteração na **aparência, odor ou sabor** de um produto alimentício, tornando-o impróprio para o consumo, seja devido ao crescimento microbiano ou não.

Em relação à deterioração, os alimentos são classificados em três categorias, baseadas principalmente quanto ao **teor de umidade** que é mensurado pela “**atividade de água**” (aa, Seção 5.15):

- (1) **alimentos perecíveis**, incluem diversos alimentos frescos, como **carnes e legumes**. Normalmente apresentam atividade de água elevada; e, portanto, devem ser armazenados sob condições capazes de inibir o crescimento microbiano;
- (2) **alimentos semiperecíveis**, como batatas, **algumas maçãs e nozes**;
- (3) **alimentos não perecíveis**, como **farinha e açúcar**, que apresentam baixa atividade de água, podendo geralmente ser estocados por longos períodos de tempo sem sofrer deterioração.

Tabela 31.3 Deterioração microbiana de alimentos frescos*

Produto alimentício	Tipo de microrganismo	Organismos deteriorantes comuns, por gênero
Frutas e legumes	Bactérias	<i>Erwinia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebacterium</i> (patógenos principalmente de legumes; raramente causam a deterioração de frutas)
	Fungos	<i>Aspergillus</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Geotrichium</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phytophthora</i> , várias leveduras
Carnes frescas, aves domésticas, ovos e frutos do mar	Bactérias	<i>Acinetobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i>
	Fungos	<i>Cladosporium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Geotrichium</i> , <i>Sporotrichium</i> , <i>Candida</i> , <i>Torula</i> , <i>Rhodotorula</i>
Leite	Bactérias	<i>Streptococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Proteus</i>
Alimentos com elevado teor de açúcar	Bactérias	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Flavobacterium</i>
	Fungos	<i>Saccharomyces</i> , <i>Torula</i> , <i>Penicillium</i>

*Os organismos relacionados correspondem aos agentes deteriorantes mais comumente observados em alimentos frescos e perecíveis. Muitos destes gêneros incluem espécies que são patógenos humanos (Capítulos 29, 30 e 32).

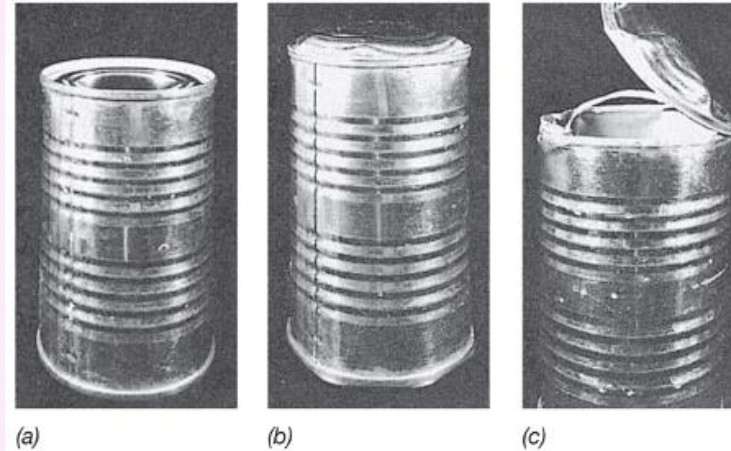
Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Conservação dos alimentos e fermentação

Os métodos de **armazenamento** e **preservação de alimentos** retardam ou interrompem o crescimento de microrganismos que acarretam a deterioração e as doenças transmissíveis por alimentos.

Os principais métodos utilizados na conservação dos alimentos incluem:

- Alteração da **temperatura**: preservação em baixas temperaturas; fervura por longos períodos de tempo; pasteurização;
- Alteração de **acidez**, **redução do teor de umidade**;
- **Fermentação**
- Tratamento com **radiação**;
- Tratamento com ou **substâncias químicas**;
- **Enlatamento** (processo que emprega vários métodos acima)



O ambiente no interior de uma lata ou jarro selado é anóxico, ideal para o desenvolvimento de um importante gênero de bactérias anaeróbias que são capazes de crescer em alimentos enlatados, os ***Clostridium*** formadores de **endósporos**. ***C. botulinum*** causa o **botulismo**.



Figura 31.8 Alimentos fermentados. Pães, carnes para embutidos, queijos, vários laticínios bem como os legumes fermentados e em conserva são alimentos produzidos ou aprimorados por reações fermentativas catalisadas por microrganismos (Tabela 31.4).

As principais bactérias de importância na indústria de alimentos fermentados incluem as bactérias produtoras de ácidos orgânicos, como as **bactérias lácticas** (nos leites fermentados), as **bactérias acéticas** e as bactérias propiônicas (em alguns queijos).

A levedura ***Saccharomyces cerevisiae*** produz álcool que é utilizado como conservante na fabricação de bebidas alcoólicas. O nível elevado de ácidos orgânicos ou álcool gerado a partir destas fermentações previne o crescimento de organismos relacionados com a deterioração e de agentes patogênicos no produto fermentado.

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Doenças transmissíveis por alimentos e epidemiologia alimentar

Estas doenças se assemelham às doenças transmissíveis pela água por serem enfermidades originárias de uma **fonte comum**.

São decorrentes de manipulação e/ou preparação inadequada do alimento.

Geralmente afetam um pequeno número de indivíduos e raramente são reportadas.

Entretanto, ocorrem surtos ocasionais causados por falhas em restaurantes ou indústrias de processamento e distribuição, que podem afetar um grande número de indivíduos, em regiões geograficamente disseminadas.

Podem ser:

- Infecções alimentares; e
- Intoxicações alimentares

Os principais microrganismos responsáveis pela maioria das doenças de origem alimentar, que causam internações e mortes no Brasil são:

- 1) *Salmonella*,
 - 2) *Escherichia coli*
 - 3) Outros coliformes (*Shigella*, etc)
 - 4) *Staphylococcus aureus*,
 - 5) *Bacillus cereus*,
 - 6) *Clostridium perfringens*,
- (todas bactérias);
- 7) *Norovírus*,
 - 8) *Rotavírus*;
- e
- 8) *Toxoplasma* (um protista)

<https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>

Tabela 31.5 Principais patógenos transmitidos por alimentos^a

Organismo	Doença ^b	Alimento
Bactérias		
<i>Bacillus cereus</i>	EA e IA	Arroz e alimentos ricos em amido, alimentos ricos em açúcar, carnes, molhos de carne, pudim, leite em pó
<i>Campylobacter jejuni</i>	IA (4) ^c	Aves domésticas, laticínios
<i>Clostridium perfringens</i>	EA e IA (3) ^c	Carne e legumes estocados em uma temperatura de armazenamento impróprio
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	IA	Carne, especialmente carne moída, legumes crus
Outras <i>Escherichia coli</i> enteropatogênicas	IA	Carne, especialmente carne moída, legumes crus
<i>Listeria monocytogenes</i>	IA	Alimentos "prontos para consumo" refrigerados
<i>Salmonella</i> spp.	IA (2) ^c	Aves domésticas, carne, laticínios, ovos
<i>Staphylococcus aureus</i>	EA (5) ^c	Carne, sobremesas
<i>Streptococcus</i> spp.	IA	Laticínios, carne
<i>Yersinia enterocolitica</i>	IA	Carne de porco, leite
Todas as outras bactérias	EA e IA	
Protistas^d		
<i>Cryptosporidium parvum</i>	IA	Carne crua e malcozida
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	IA	Hortifrutigranjeiros frescos
<i>Giardia intestinalis</i>	IA	Carne contaminada ou infectada
<i>Toxoplasma gondii</i>	IA	Carne crua e malcozida
Vírus		
Norovírus	IA (1) ^c	Marisco, muitos outros alimentos
Vírus da hepatite A	IA	Marisco e alguns outros alimentos que são consumidos crus

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Infecção alimentar e Intoxicação alimentar

Infecção alimentar

É uma **infecção microbiana** resultante da ingestão de alimento contaminado, contendo quantidades suficientes de patógenos viáveis capazes de promover a colonização e o crescimento do microrganismo no hospedeiro resultando em doença.

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

É resultante da ingestão de alimentos contendo **toxinas microbianas**. Muitas vezes os microrganismos produtores não estão vivos quando o alimento contaminado é consumido.

Exemplos de bactérias produtoras de Toxinas:

- *Escherichia coli*
- *Salmonella*
- *Shigella*

- *Staphylococcus* (superantígeno)
- *Streptococcus* (superantígeno)

- *Bacillus cereus*

- *Clostridium botulinum*
- *Clostridium perfringens*

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Enterotoxinas de *Escherichia coli*

A maioria das linhagens de *Escherichia coli* não é patogênica, na verdade como todos sabem, fazem parte da **microbiota normal do corpo humano** e, assim, são “**bactérias do bem**” e veremos estas bactérias com mais detalhes logo mais adiante.

Contudo, poucas linhagens (derivadas destas) são patogênicas e podem ser transmitidas por alimentos e por águas contaminadas. Estas **linhagens patogênicas** produzem **potentes enterotoxinas**. São agrupadas levando em conta o tipo de toxina produzida e o sorotipo bacteriano (resposta sorológica da bactéria).

As linhagens *E. coli* **patogênicas** provocam sintomas de doença que variam desde **diarreias** (sintomas leves autolimitados) até **disenteria bacilar** (tão graves que **pode necessitar de hospitalização** podendo causar problemas no trato urinário e até risco a vida).

A classificação, de acordo com a **sorotipagem**:

- **EPEC** (*E. coli* Enteropatogênica) – não produz toxinas, patogenicidade unicamente devida a adesão localizada e firme ao epitélio intestinal,
- **ETEC** (*E. coli* Enterotoxigênica) – produz toxinas
- **EIEC** (*E. coli* Enteroinvasora) – tem capacidade de invadir o epitélio intestinal causando **disenteria bacilar**
- **EHEC** (*E. coli* Enterohemorrágica) – produz potente toxina (“Shiga like toxin”) e pode ser invasora.



Lesão A/E (attaching and effacing) provocada por **EPEC**

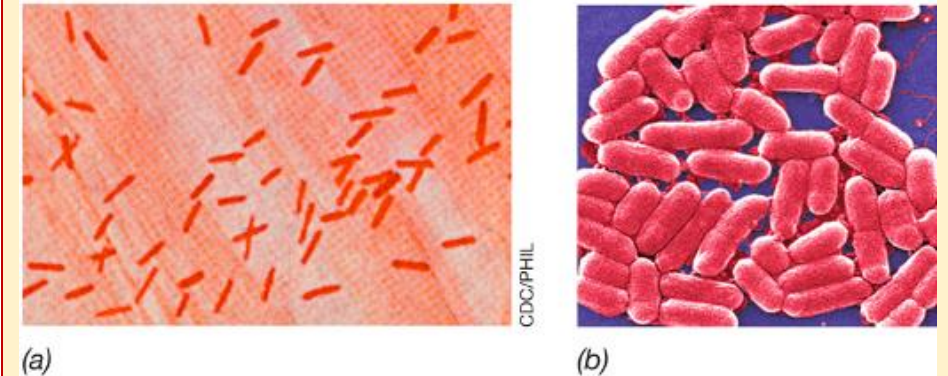
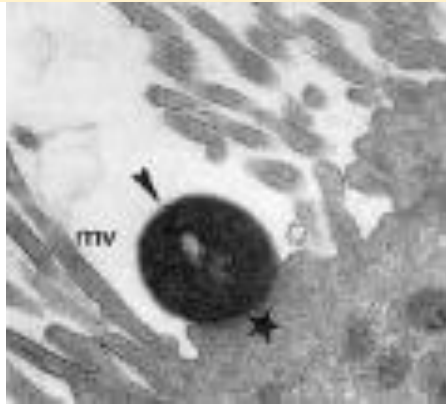
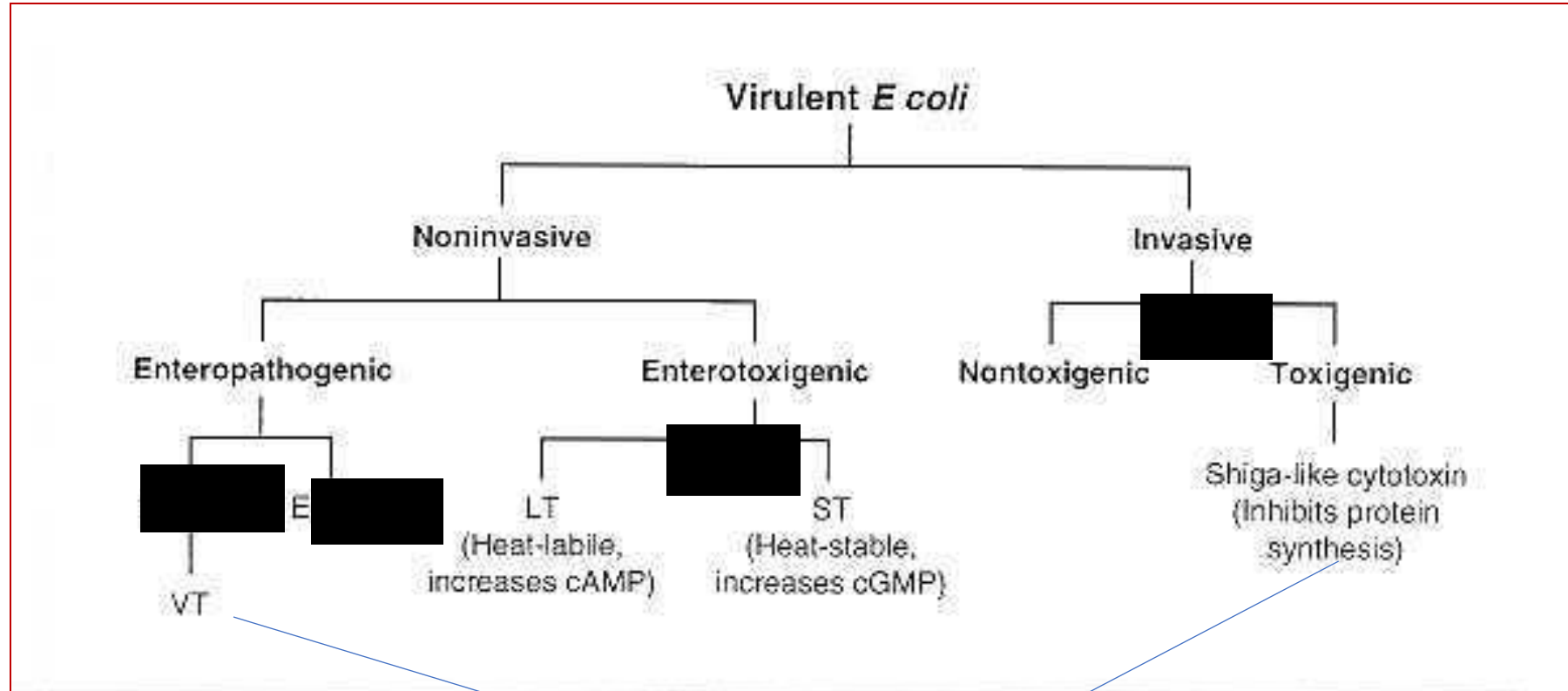


Figura 31.14 *Escherichia coli* patogênica. (a) Células de *E. coli* coradas pelo Gram, apresentando a morfologia típica em forma de bastonete das bactérias gram-negativas. (b) Micrografia eletrônica de varredura colorizada de células de *E. coli* O157:H7. As células medem aproximadamente $1 \times 3 \mu\text{m}$.

Escherichia coli **enterohemorrágica (EHEC)** sorotipo O157:H7 foi reconhecida como um **importante patógeno vinculado a doenças alimentares a partir de 1983** devido a um surto ocorrido pela ingestão de hambúrgueres mal cozidos em um restaurante fast-food nos **EUA**.

Sorotipos Enteropatogênicos de *Escherichia coli*



VeroToxina =
Toxina semelhante
à toxina de *Shigella*

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Enterotoxinas de *Salmonella*

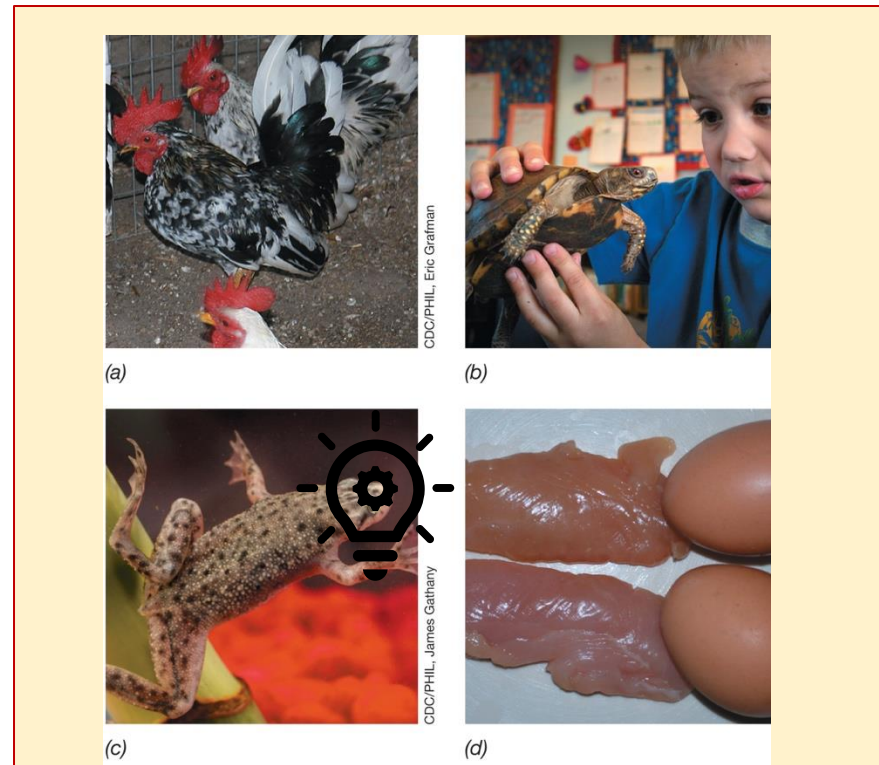


Figura 31.12 Algumas fontes de transmissão de *Salmonella*. (a) As aves domésticas contêm *Salmonella* em seus intestinos e fezes. (b) A *Salmonella* também pode ser transferida para os seres humanos a partir de (b) répteis e (c) anfíbios. (d) Porções de aves domésticas e ovos frescos.

Salmonella é uma bactéria da família das **Enterobacteriaceae** que causa intoxicação alimentar (**Salmonelose**) e em casos raros, pode provocar graves infecções e até mesmo a morte. É uma bactéria invasora do epitélio intestinal e produz potente toxina.

<https://saude.gov.br/saude-de-a-z/Salmonella>

VIDEO: <https://youtu.be/BuzPMMPxhR0>

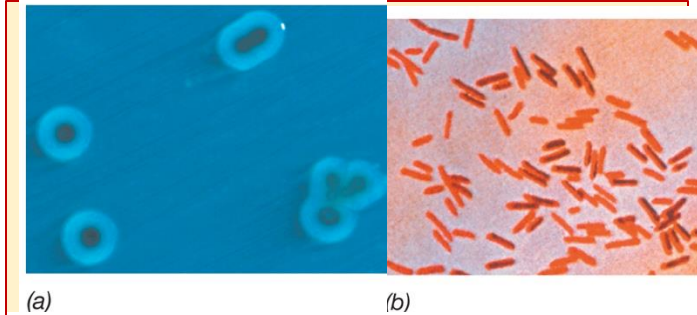


Figura 31.13: Isolamento de *Salmonella*. (a) Colônias de *S. entérica* sorovar *typhimurium* crescidas no meio sólido seletivo e diferencial Hektoen*; (b) Observação ao Microscópio óptico de células coradas pela coloração de Gram



Meio Hektoen é um meio de cultura bacteriana seletivo e diferencial:

- ✓ é **seletivo**, porque:
 - contem inibidor de crescimento de bactérias Gram-positivos; e também
- ✓ é **diferencial**, porque:
 - contem peptona (não fermentescível) e lactose que é a única fonte de açúcar fermentescível;
 - contem tiosulfato que é reduzido a H_2S que se associa a Fe^{3+} presente no meio formando **FeS** (precipitado negro).

Assim ***Salmonella*** forma colônias brancas (não fermenta lactose) com centros negros devido a precipitação de FeS .

Obs: Outros meios de cultura seletivos e diferenciais poderiam ser utilizados, como: Meio MacConkey, Meio Salmonella-Shigella, e ainda outros.

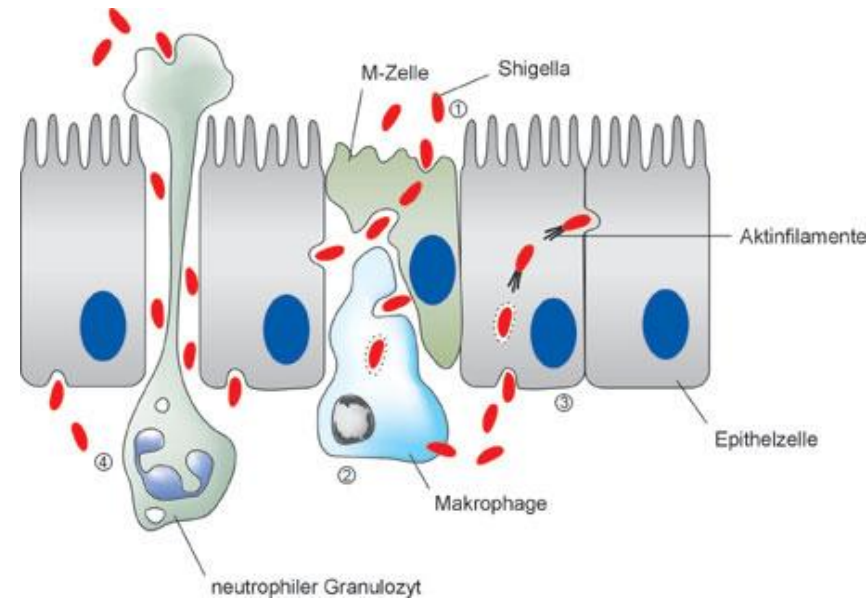
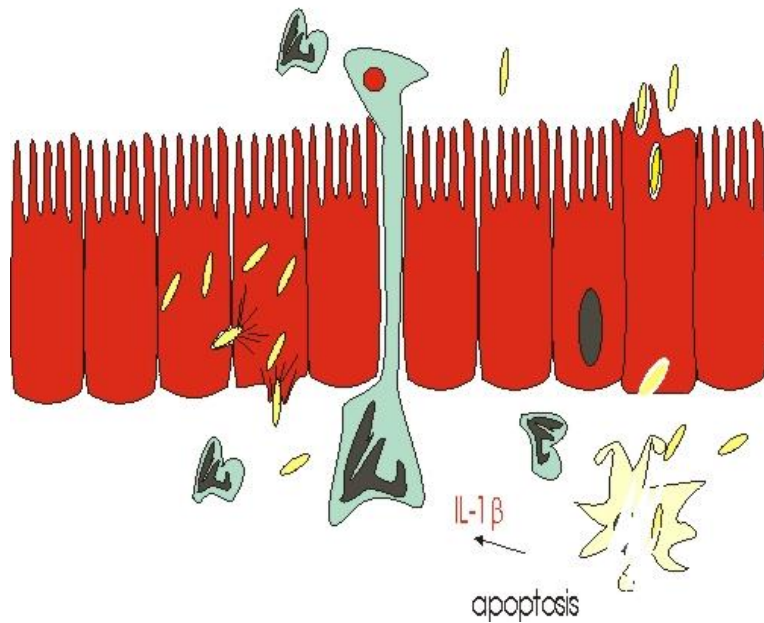
Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Enterotoxinas de *Shigella*

Shigella, entry and spread



Shigella é uma bactéria (Enterobactéria) que invade o epitélio intestinal e produz potente toxina – “Shiga Toxin”. A ingestão de alimentos contaminados com esta bactéria resulta no quadro de Disenteria bacilar com severas complicações.

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Enterotoxinas de *Staphylococcus*

Quando consumidas, as toxinas provocam sintomas gastrintestinais, caracterizados por uma ou mais das seguintes manifestações clínicas: náuseas, vômitos, diarreia e desidratação. O início dos sintomas ocorre entre 1 a 6 horas após ingestão, dependendo da quantidade de enterotoxina consumida, porém os sintomas geralmente regredem em menos de 48 horas.

Enterotoxinas de *Staphylococcus*
Problema – e a principal Fonte da contaminação:

A maioria das pessoas tem a bactéria *Staphylococcus aureus* na pele. Durante o preparo de comidas, o contato das mãos (principalmente ao nariz) e retorno ao alimento, promove a contaminação. A toxina é relativamente termoestável (resistente a 60° C por vários minutos).

As toxinas de *Staphylococcus* são nomeadas pela sigla “SE” de “*Staphylococcus* Enterotoxin”:

SEA, SEB, SEC e SED e são codificadas pelos genes *sea*, *seb*, *sec* e *sed*:

- Os genes ***seb*** e ***sec*** estão no **cromossomo** bacteriano,
- O gene ***sea*** está em um **bacteriófago** lisogênico,
- O gene ***sed*** está em um **plasmídeo**.

Os genes ***sea*** e ***seb*** podem transferir a capacidade de produção da toxina para linhagens não toxigênicas de *Staphylococcus* por meio de **transferência gênica horizontal**. **SEA** é mundialmente a causa mais comum de intoxicação alimentar por estafilococos.

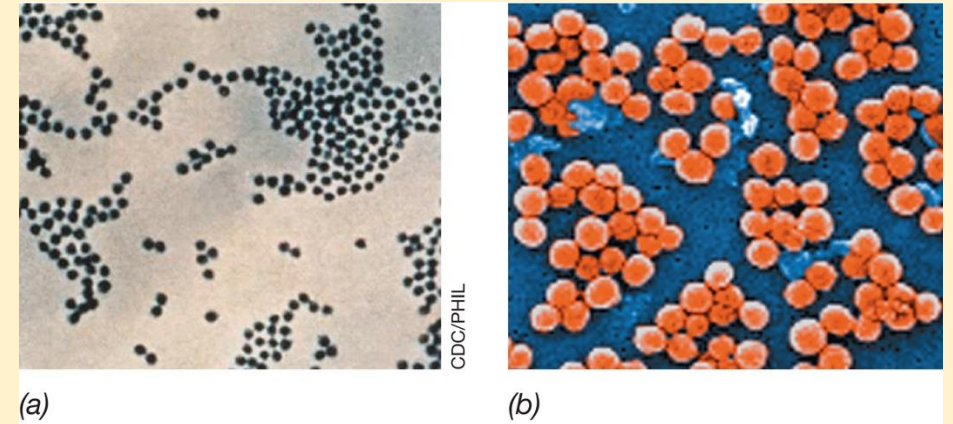


Figura 31.10 *Staphylococcus aureus*. (a) Micrografia óptica corada pelo Gram apresentando a morfologia típica em “cachos de uvas” dos estafilococos. (b) Micrografia eletrônica de varredura colorizada de células de *S. aureus*. Uma única célula possui cerca de 0,8 µm de diâmetro.

Confira:

- Quais são os sintomas da intoxicação alimentar por estafilococos?
- Por que o tratamento com antibióticos não possui efeito sobre as consequências ou a gravidade de uma **intoxicação** alimentar estafilocócica?

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Espécies mais Patogênicas para o homem:

- *B. cereus*
- *B. anthracis*

- Intoxicações alimentares:

1. Após 1-6 horas: náusea e vômitos (~*Staphylococcus aureus*)
2. Após 8-16 horas: Dores abdominais e diarreia (~*Clostridium perfringens*)

Bacillus cereus



Bacillus anthracis

Placa com ágar-sangue

- Carbúnculo ou Antraz.

- Koch (1887)
- 1880 matou 50% carneiros na Europa
- Recente importância (BIOTERRORISMO)
 - Japão
 - EUA (2001)

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

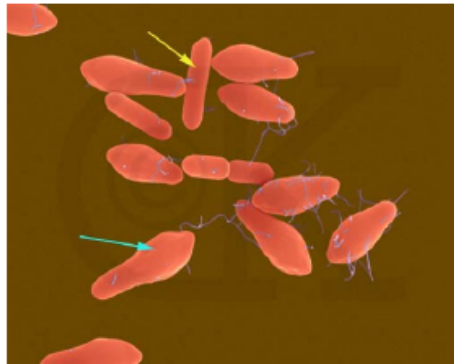
Intoxicação alimentar, também chamada envenenamento alimentar

Exemplo:

Enterotoxinas de *Clostridium*

Anaeróbios

BOTULISMO *Clostridium botulinum*



✓ Bacilo Gram positivo
formador de endosporo

✓ Encontrado no solo

ENDOSPORO:
Forma de
resistência

(infectante)
(de resistência)

→ Forma vegetativa
→ Endosporo

BOTULISMO

- ✓ Forma severa de intoxicação alimentar
- ✓ Morte por paralisia flácida da musculatura autônoma: respiratória ou cardíaca

TOXINA BOTULÍNICA:

Existem 7 tipos de toxinas botulínicas, sendo elas as mais fortes conhecidas até hoje.

Dose letal: ~0,00001 g (homem 70 Kg)

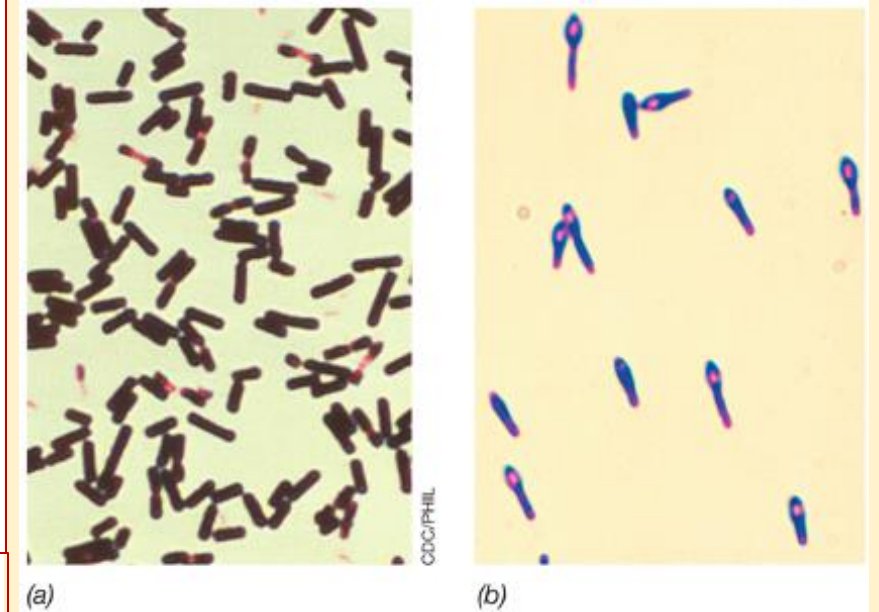


Figura 31.11 Clostrídios que causam intoxicação alimentar. (a) Coloração de Gram de uma cultura em crescimento de *Clostridium perfringens*, a bactéria que causa a intoxicação alimentar por *perfringens*. Uma célula mede cerca de $1 \times 3 \mu\text{m}$. (b) Coloração de Gram de uma cultura em esporulação de *Clostridium botulinum*, o agente causador do botulismo. Uma única célula mede cerca de $1 \times 5 \mu\text{m}$.

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

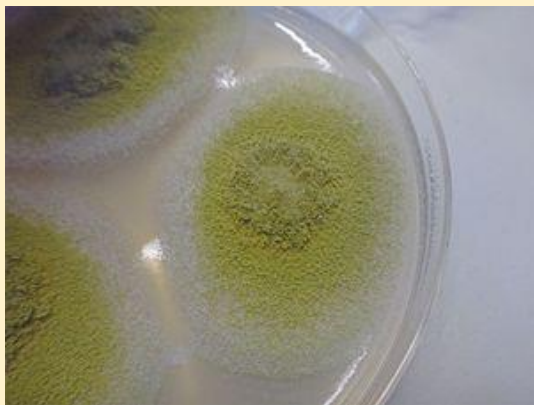
Intoxicação alimentar, também chamada **envenenamento alimentar**

Micotoxinas

Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por vários fungos filamentosos, especialmente de espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*.

Estão presentes em quase todas as “commodities” agrícolas em todo o mundo. Diferentemente dos metabólitos primários (açúcares, aminoácidos e outras substâncias), os metabólitos secundários não são essenciais para a função metabólica normal. Outro metabólito secundário são os antibióticos.

A contaminação pode ocorrer já no campo, **antes ou após** a colheita, **durante o transporte e/ou armazenamento**.



Aspergillus flavus colônias crescidas em meio Agar Sabouraud e conídio.



Fusarium



Penicillium verrucosum

Micotoxinas

As micotoxinas são invisíveis, insípidas, quimicamente estáveis e resistentes à temperatura e armazenamento. Elas são resistentes aos processos normais de fabricação de alimentos para o homem e animais.

Os **fungos produtores de micotoxinas** podem ser divididos em dois grupos:

- **Fungos de campo** (como *Fusarium* sp.) - Normalmente produzem micotoxinas no campo ("pré-colheita");
- **Fungos de armazenamento** (como *Aspergillus* e *Penicillium* sp.) - Geralmente ocorrem após a colheita ("pós-colheita")

Entretanto:

- Em condições anormalmente quentes ou secas, espécies *Aspergillus* e *Penicillium* também podem afetar culturas durante a estação de crescimento;
- Fungos de campo podem continuar crescendo e produzir micotoxinas durante o transporte e o armazenamento.

Perdas Econômicas:

As micotoxinas causam perdas econômicas em todos os níveis da produção de alimentos e rações, incluindo produção, processamento e distribuição. Segundo a FAO ("Food and Agriculture Organization"), cerca de 50% das colheitas mundiais podem estar contaminadas com micotoxinas.

**Fungo filamentoso =
bolor**



<http://www.portalr2s.com.br/contaminacao-por-micotoxinas-em-racoes-brasileiras/>

Saiba que.:

- **Algumas espécies de fungos filamentosos produzem micotoxinas**
- **As leveduras são fungos unicelulares e NÃO produzem micotoxinas**

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Micotoxinas

Os fungos crescem e se proliferam bem em grãos quando em condições ideais de **temperatura, umidade**, presença de **oxigênio, pH adequado, nutrientes**.

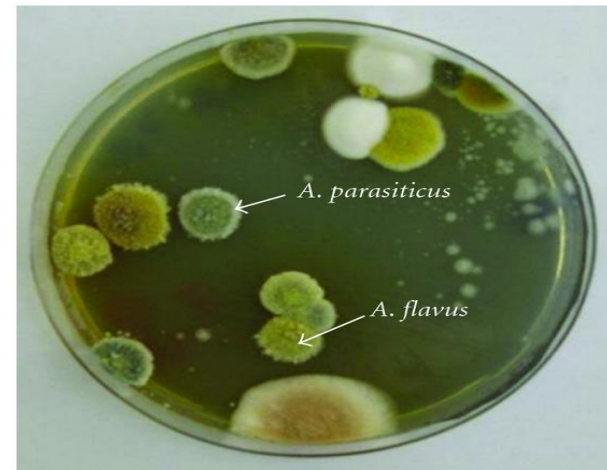
A evidência da ocorrência das micotoxinas está relatada no **Antigo Testamento**. Porém, receberam atenção especial na década de **1960**, quando houve um **surto de aflatoxicose** na Europa.

As **principais micotoxinas** de ocorrência em **grãos** e subprodutos utilizados na nutrição animal no **Brasil** são: **Aflatoxinas, Fumonisin, Zearalenona, tricotecenos** e **Ocratoxinas**. Outras micotoxinas, mesmo que ocorram em menor frequência, provocam importantes perdas econômicas quando contaminam os alimentos.

Micotoxina	Aflatoxinas	Zearalenona	Fumonisin	Tricotecenos	Ocratoxina A
Fungos que mais produzem	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i>
Alimentos mais propensos à contaminação	Amendoim, castanhas, nozes, milho e cereais em geral	Milho e cereais de inverno	Milho e cereais de inverno	Milho e cereais de inverno	Milho e grãos estocados
Principais fatores da produção	Armazenamento em condições inadequadas.	Temperaturas frias associadas à alta umidade.	Estação seca seguida de alta umidade e temperaturas moderadas.	Temperatura fria, alta umidade e problemas no armazenamento.	Deficiências no armazenamento.

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Micotoxinas	Alimento/bebida onde é encontrada	Comentários	Principais Fungos produtores	Efeitos Tóxicos
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Principalmente em amendoim, milho, oleaginosas, especiarias e frutos desidratados. Feijão, castanhas, avelã, amêndoas, cereais, cacau, etc.	AFB1 (aflatoxina B1) é micotoxina mais abundante e mais tóxica. É considerada o composto natural mais carcinogênico que se conhece.	Majoritariamente pertencem ao gênero <i>Aspergillus</i> do grupo <i>Flavi</i> . São os mais importantes: - <i>Aspergillus flavus</i> , - <i>Aspergillus parasiticus</i> , - <i>Aspergillus nomius</i> - <i>A. pseudotamarii</i>	- Hepatotóxico, - Citotóxico, - Mutagênico, - Carcinogênico
Aflatoxina M1, M2	Leite, queijos, derivados de animais que ingeriram ração contaminada. etc.	São metabólitos hidroxilados das Aflatoxinas B1 e B2.		
Ocratoxina A	Café torrado, Cereais e produtos derivados, Cevada mateada, Feijão, Frutas desidratadas, etc.		- <i>Aspergillus westerdijkiae</i> (previamente conhecido como <i>A. ochraceus</i>) - <i>Aspergillus niger</i> - <i>Penicillium verrucosum</i>	- Nefrotóxico, - Tumores renais
Desoxinivalenol (DON)	Milho, Aveia, Cevada Centeio, sementes de girassol, trigo, etc.	Provavelmente é a micotoxina que mais contamina rações animais.	Espécies do gênero <i>Fusarium</i> : - <i>F. graminearum</i> , - <i>F. culmorum</i>	- Náusea temporária, - Neurotóxico
Fumonisinás (B1 + B2)	Milho incluindo de pipoca, etc.		- <i>Fusarium verticillioides</i> - <i>Fusarium proliferatum</i> , - <i>Aspergillus niger</i>	- Hepatotóxico, - Edema pulmonar, - Carcinogênico
Zearalenona (ZEA)	Cereais, etc.		Espécies do gênero <i>Fusarium</i> : - <i>F. graminearum</i> , - <i>F. culmorum</i>	- Hepatotóxico, - Efeito estrogênico
Patulina	Maçã e derivados como: suco, polpa, cremes		- <i>Penicillium expansum</i>	- Neurotóxico, - Genotóxico, - Edema cerebral e pulmonar



Na posição de ser um dos países líderes na produção de alimentos agrícolas e de “commodities”, o **Brasil** possui condições ambientais excelentes para o crescimento de todos vários fungos micotoxigênicos.

veja:

1) http://www.cnpat.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf

2) <http://www.mycotoxins.info/pt/mycotoxins/common-mycotoxins/aflatoxins/>

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças

Intoxicação alimentar, também chamada **envenenamento alimentar**

Exemplo:

Micotoxinas em Cerveja

Durante a fabricação de cerveja, as **micotoxinas** originárias da **cevada maltada (malte)** e de outros **grãos** sobrevivem ao processo, cada uma delas, em diferentes graus de extensão. Avanços nas metodologias permitem a detecção e quantificação de níveis muito baixos ($<1 \text{ ng / mL}$) de: **DON**, **ZEA**, **OCRA**, **AFLA**.

Em **cervejas comerciais** **DON** é a micotoxina que melhor sobrevive ao processo de fabricação.

Zearalenona (ZEA) provavelmente é convertida em (3-zearalenol) durante a fermentação.

Pequenas porcentagens de **Ocratoxina A** e **Aflatoxinas** foram recuperadas em.

Em **cervejas artesanais** estas mesmas toxinas também podem estar presentes.



Métodos de Detecção de Micotoxinas

Quadro: Métodos **Tradicionais** e **Novos** de detecção de Micotoxinas – Vantagens e desvantagens.

Métodos	Vantagens	Desvantagens
GC GC-MS	Análise Simultânea de micotoxinas. Oferece boa sensibilidade, pode ser automatizado, fornece confirmação quando acoplado a detector de Espectrometria de massa (MS).	Equipamento caro, necessidade de conhecimento técnico especializado para operação e análise.
HPLC	Boa sensibilidade, boa seletividade, boa repetitividade, podem ser automatizadas (amostrador automático), curtos tempos de análise, métodos oficiais disponíveis.	Equipamentos caros, necessidade de conhecimento técnico especializado para operação e análise.
LC/MS	A análise simultânea de micotoxinas, boa sensibilidade (LC / MS / MS), fornece confirmação, sem necessidade de derivatização.	Muito caro, é necessária experiência especializada, a sensibilidade depende da técnica de ionização, curva de calibração assistida por matriz (para análise quantitativa), falta de padrões internos.
ELISA	Preparação simples de amostras, equipamento barato, alta sensibilidade, análise simultânea de várias amostras, adequada para triagem, uso limitado de solventes orgânicos.	Reatividade cruzada com micotoxinas relacionadas, problemas de interferência da matriz, possíveis resultados falso-positivos / negativos, é necessária a análise confirmatória (por ex. LC.)
LFD	Rápido, sem limpeza, sem equipamento caro, fácil de usar, sem treinamento específico necessário.	Semi-quantitativa (avaliação visual), reatividade cruzada com micotoxinas relacionadas, validação necessária para matrizes adicionais.
FPIA	Rápido, sem necessidade de limpeza, validado para DON em trigo.	Inconsistente com as análises ELISA ou HPLC (exceto DON), baixa sensibilidade em alguns casos, reatividade cruzada com micotoxinas relacionadas, problemas de interferência da matriz.
Espectroscopia IR	Medição rápida e não destrutiva, sem extração ou limpeza, operação fácil.	Equipamento caro, modelo de calibração deve ser validado, conhecimento de métodos estatísticos, baixa sensibilidade.
Biosensores	Rápido, sem procedimento de limpeza.	Reatividade cruzada com micotoxinas relacionadas, limpeza do extrato necessária para melhorar a sensibilidade, variação na reprodutibilidade e repetitividade.
MIP	Baixo custo, estável, reutilizável.	Seletividade Baixa.

Há vários métodos analíticos para a determinação de micotoxinas e estes estão sendo continuamente aprimorados.



Equipamento GC-MS

Equipamento GC-MS é considerado um **"padrão ouro"** realizar um teste 100% específico, que identifica positivamente a presença de uma substância específica

A micotoxina Desoxinivalenol (**DON**), produzida por *Fusarium graminearum* e *Fusarium culmorum*, é o pertence à família dos tricotecenos do tipo B e é considerada um dos principais contaminantes de ingredientes derivados de cereais rações .

O método de ELISA é comumente utilizado para analisar **DON** em rações

Observe a diversidade:

Dentro de um único gênero de fungo filamentoso.

Veja o gênero *Penicillium*

Observe a diversidade

Fungos do gênero *Penicillium*

crecem em matéria orgânica especialmente no solo e outros ambientes úmidos e escuros. Contaminam pães (bolor do pão) frutas, sementes e chegam a invadir habitações.

Este gênero é composto por espécies com características muito distintas:

- ✓ Espécies “do bem”, empregadas na produção de:
 - **Antibióticos:** *P. chrysogenum* (anteriormente chamado *P. notatum*)
 - **Queijos especiais**
- ✓ Espécies saprófitas
- ✓ Espécies que produzem Micotoxinas:
Ex. *Penicillium verrucosum*

fungos filamentosos “do BEM” !



Queijo **Roquefort**
com colônias de
Penicillium roqueforti



Queijo **Camembert** onde se
observa a sua casca formada
pelo bolor *Penicillium*
camemberti



Queijo **Gorgonzola**.

Penicillium glaucum é empregado na fabricação de vários tipos de queijos azuis, muito apreciados na França, Itália e Inglaterra: Fourme d'Ambert, Stilton, Gorgonzola, etc.

Espécies de *Penicillium* “do bem” empregadas na fabricação de queijos especiais

2. Emprego de microrganismos em Processos Biotecnológicos Industriais

1. Indústria de Alimentos e Bebidas - Resumo



A) Lado Positivo - Visão geral:

- Produção de alimentos (pães, queijos, fermentados embutidos)
- Produção de bebidas,
- Produção de “Single Cell Protein” (SCP) e de Suplementos alimentares derivados
- Produção de Aditivos para alimentos: Conservantes naturais, Emulsificantes, Aromas, Essências, Espessantes
- Probióticos e Prebióticos, logurte
- Produção de alimentos funcionais (Nutracêuticos)

B) Fungos e Micotoxinas e outros problemas

Lado Negativo - Os alimentos como veículo de transmissão de doenças



Sugestão para o seu Trabalho de Conclusão da Disciplina :

(veja mais detalhes ref. formato do trabalho no Moodle/USP – Orientações)

Observe o DESAFIO proposto e amplie a sua pesquisa relativa aos microrganismos que mais frequentemente causam Infecções Alimentares e quais são os microrganismos produtores de toxinas mais frequentemente envolvidas nas Intoxicações Alimentares no Brasil - ou seja - ”Infecções Alimentares e Intoxicações Alimentares no Brasil”.

Inclua:

- Nome dos microrganismos,
- Breve descrição do quadro clínico
- Consequências econômicas
- Exemplos de casos ocorridos

Consulte livros, publicações em revistas científicas, órgãos governamentais (Secretaria da Saúde, Ministério da Saúde, Anvisa, outros)

