



Bases para a vigilância sanitária de alimentos

Bases para a vigilância sanitária de alimentos

Melina Campagnaro Farias

© 2016 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente

Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação

Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico

Alberto S. Santana

Ana Lucia Jankovic Barduchi

Camila Cardoso Rotella

Cristiane Lisandra Danna

Danielly Nunes Andrade Noé

Emanuel Santana

Grasiele Aparecida Lourenço

Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Paulo Heraldo Costa do Valle

Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisora Técnica

Sônia Aparecida Santiago

Editoração

Adilson Braga Fontes

André Augusto de Andrade Ramos

Cristiane Lisandra Danna

Diogo Ribeiro Garcia

Emanuel Santana

Erick Silva Griep

Lidiane Cristina Vivaldini Olo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F224b Farias, Melina Campagnaro
Bases para a vigilância sanitária de alimentos / Melina
Campagnaro Farias. – Londrina: Editora e Distribuidora
Educacional S.A., 2016.
208 p.

ISBN 978-85-8482-657-5

1. Segurança alimentar. 2. Alimentos – Contaminação.
3. Alimentos – Manuseio – Aspectos da saúde. 4. Doenças
Induzidas pela nutrição. 5. Vigilância sanitária. I. Título.

CDD 363.192

2016

Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza

CEP: 86041-100 – Londrina – PR

e-mail: editora.educacional@kroton.com.br

Homepage: <http://www.kroton.com.br/>

Sumário

Unidade 1 Introdução à microbiologia de alimentos	7
Seção 1.1 - História da vigilância sanitária de alimentos	11
Seção 1.2 - Esterilização e desinfecção	21
Seção 1.3 - Introdução à microbiologia e fisiologia bacteriana	33
Seção 1.4 - Técnicas microbiológicas bacterianas	45
Unidade 2 Microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos	59
Seção 2.1 - Contaminação dos alimentos	63
Seção 2.2 - Fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano	73
Seção 2.3 - Avaliação da atividade microbiana	85
Seção 2.4 - Análise dos alimentos	95
Unidade 3 Doenças transmitidas por alimentos	107
Seção 3.1 - Vigilância sanitária de alimentos	111
Seção 3.2 - Infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos	123
Seção 3.3 - Técnicas de análise microbiológica em alimentos I	135
Seção 3.4 - Técnicas de análise microbiológica em alimentos II	145
Unidade 4 Doenças não relacionadas a alimentos	157
Seção 4.1 - Doenças bacterianas	161
Seção 4.2 - Diagnóstico de doenças bacterianas	171
Seção 4.3 - Doenças virais e fúngicas	181
Seção 4.4 - Diagnóstico de doenças virais e fúngicas	191

Palavras do autor

Por que estudar Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos na área da saúde? O estudo desse tema permite a você, aluno, conhecer a legislação e os métodos de prevenção em segurança alimentar, que são fundamentais para todo profissional dedicado à área de vigilância sanitária, especialmente no que se refere à segurança alimentar. E essa é uma questão que tem mobilizado esforços de governantes do mundo inteiro, no sentido de minimizar um número crescente de doenças causadas por alimentos contaminados.

Na Unidade 1, você terá a oportunidade de aprender sobre a microbiologia de alimentos, e assim estudar o histórico de vigilância sanitária e suas leis, as técnicas e os fundamentos de esterilização e desinfecção, estudar a morfologia e fisiologia bacteriana e aprender técnicas de detecção microbiológicas, que são fundamentais no processo de análise e prevenção da segurança alimentar.

Na Unidade 2, você terá a oportunidade de aprender sobre os fatores intrínsecos e extrínsecos que limitam a proliferação microbiológica nos alimentos, causando sua contaminação. Além disso, estudará os principais tipos de contaminação microorgânica em alimentos, suas causas, efeitos, prevenção e como analisar o alimento.

Na Unidade 3, você aprenderá sobre as doenças transmitidas por alimentos, assim como a origem das infecções, intoxicações e tóxico-infecções alimentares, as causas, as maneiras de detectá-las nos alimentos e suas consequências para a população.

Na Unidade 4, você aprenderá sobre as doenças não relacionadas aos alimentos, principalmente as doenças bacterianas, virais e fúngicas, seu modo de transmissão e o modo de prevenção.

Com toda essa gama de informação, ao final dos estudos, você será capaz de compreender a atuação da vigilância sanitária em alimentos e terá consciência da importância da segurança alimentar e de tomar decisões e agir de forma ética no exercício da sua profissão.

Introdução à microbiologia de alimentos

Convite ao estudo

Por que estudar Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos na área da saúde? O estudo desse tema possibilita que você conheça a legislação e os métodos de prevenção em segurança alimentar, que são fundamentais para todo profissional dedicado à área de vigilância sanitária. As doenças transmitidas pelos alimentos representam um grau considerável de morbidade e mortalidade, e se atribui uma grande ênfase na inspeção sanitária para prevenção e controle de sua ocorrência.

Nesta unidade de ensino, vamos enfatizar os conceitos gerais sobre microbiologia de alimentos, os quais abordam temas da história do sistema de vigilância sanitária de alimentos, normas de esterilização e desinfecção de equipamentos, introdução à microbiologia e fisiologia bacteriana e técnicas de análise microbiológicas bacterianas. Além disso, você terá a oportunidade de aprender sobre a lei n. 8.080, de 19 de setembro de 1990, e sobre o histórico de evolução da vigilância sanitária de alimentos no Brasil.

Competência geral:

Conhecer a relação entre a microbiologia e a conservação dos alimentos.

Competência técnica:

Conhecer os principais meios de controle de crescimento bacteriano.

Objetivos:

- Conhecer a lei n. 8.080, de 19 de setembro de 1990, e o histórico evolutivo da vigilância sanitária dos alimentos no Brasil.

- Conhecer a história da legislação e das políticas de saúde no Brasil.
- Compreender normas de prevenção ao controle de crescimento bacteriano.
- Estudar as características estruturais e morfológicas das bactérias.
- Aprender e aplicar técnicas de semeadura para diagnóstico microbiológico.
- Aplicar o conhecimento adquirido no estudo em situações próximas da realidade profissional.

Para auxiliar no desenvolvimento das competências apresentadas anteriormente e atender aos objetivos específicos do tema em questão, introdução à microbiologia de alimentos, a seguir será apresentada uma situação hipotética que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática.

No curso de graduação em Nutrição, a professora da disciplina de bases para a vigilância sanitária de alimentos dividiu a classe em quatro grupos de sete alunos e solicitou um trabalho sobre a microbiologia de alimentos. Neste trabalho os grupos deverão analisar e resolver situações que se passam em setores de serviços. A seguinte situação foi apresentada aos alunos: agentes da vigilância sanitária da cidade de São Paulo realizaram uma ronda surpresa para fiscalizar estabelecimentos na cidade. Dessa vez, o mercado (X) e a pastelaria (Y) receberam a visita de agentes para inspeção sanitária. O objetivo das rondas é fiscalizar estabelecimentos, notificando e multando aqueles que não seguem o padrão sanitário. O primeiro a ser fiscalizado foi o mercado (X), que foi multado por manter de forma irregular o armazenamento dos alimentos e por não cumprir aspectos estruturais de refrigeração das prateleiras no setor de refrigerados. O segundo estabelecimento a ser autuado, de forma grave, foi a pastelaria (Y), pois nesta foram encontrados, pelos agentes sanitários, alimentos armazenados irregularmente para consumo e fora do padrão de higiene, sendo que destes, 30 kg foram descartados. Os agentes sanitários deram aos responsáveis pelos estabelecimentos um prazo de até 50 dias para adequação.

Cada grupo de alunos deverá analisar essa situação e discutir um determinado aspecto do caso. O primeiro grupo deverá discutir quais foram as condutas legais que permitiram a autuação dos comerciantes pela equipe de vigilância sanitária e os tipos de medidas usados pelos fiscais com os responsáveis pelo estabelecimento. O segundo grupo

deverá discutir as condutas de esterilização e desinfecção que o profissional da saúde deve usar para evitar o tipo de contaminação exposto no problema. O terceiro grupo deverá analisar a situação dentro do contexto fisiológico bacteriano para evitar a proliferação, principalmente em relação às exigências nutricionais e ambientais. E, por fim, o quarto grupo deverá discutir as possíveis técnicas de detecção e identificação dos microrganismos em alimentos.

Analisando essa situação, você consegue imaginar quantas questões relacionadas à introdução à microbiologia de alimentos estão envolvidas nesse cenário? Em cada seção desta unidade você aprenderá os principais temas da saúde que o levarão a resolver e compreender cada questionamento da situação. Vamos começar?

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Seção 1.1

História da vigilância sanitária de alimentos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à primeira seção de estudos deste livro didático!

A partir de agora você iniciará seus estudos sobre a história do sistema de vigilância sanitária de alimentos. Aprenderá nesta seção sobre a lei n. 8.080, de 19 de setembro de 1990, conhecida como Lei Orgânica da Saúde, e sobre o histórico da vigilância sanitária dos alimentos no Brasil. Além disso, conhecerá quais são seus direitos e obrigações enquanto profissional desta área.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo”, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos do curso superior de Nutrição tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação real de rotina de trabalho para agentes e fiscais de vigilância sanitária de alimentos. O primeiro grupo deverá discutir quais foram as condutas legais que permitiram a autuação dos comerciantes pela equipe de vigilância sanitária e os tipos de medidas usadas pelos fiscais com os responsáveis pelo estabelecimento.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a conduta ideal dos profissionais da saúde, serão apresentadas, de forma contextualizada no item “Não pode faltar”, quais são as regras e normas de condutas, que implicam os direitos e as obrigações que todos os profissionais enquadrados na área de saúde devem cumprir de forma ética e eficaz, com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar da coletividade.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar microbiologia de alimentos? Como pôde perceber na situação real apresentada no “Convite ao estudo”, durante nosso trabalho, no dia a dia, lidamos constantemente com as mais diversas situações de relacionamento profissional com as pessoas; sendo assim, para nos relacionarmos de forma ética e consciente sem causar danos e prejuízos a terceiros, é necessário obter o conhecimento básico das principais regras e normas de condutas e obrigações, principalmente no caso dos profissionais da saúde que tratam e cuidam de vidas. O compromisso desse profissional para com a saúde do comensal não pode ser tratado como algo externo à sua prática profissional, mas como dever de profissão.

A segurança alimentar é uma questão que tem mobilizado esforços de governantes do mundo inteiro, no sentido de minimizar um número crescente de doenças causadas por alimentos contaminados. Cabe ao Poder Público criar mecanismos que garantam a oferta de alimentos seguros à população, sendo de fundamental importância a existência de legislações visando estabelecer critérios de qualidade que compreendam todas as etapas de produção, processamento, armazenamento, conservação e exposição à venda. A garantia de alimentos seguros traz benefícios não só à população que os consome, mas também gera maiores divisas ao país, por meio do aumento da produtividade, competitividade e diminuição de gastos com tratamento médico de doença de origem alimentar.

Um breve histórico: o que se entende por vigilância sanitária remonta ao período colonial, a partir das ações da polícia sanitária, cujas atividades eram exercidas pelas Câmaras Municipais. Seus principais objetivos eram coibir a propagação de doenças por meio do controle sanitário em portos, cemitérios, sobretudo em locais de comercialização de alimentos, além de combater o exercício ilegal das profissões ligadas à saúde.

Com o advento da instauração da República, o controle sanitário foi melhor definido por meio de criação de leis em substituição às normas então existentes. No ano de 1953 foi criado o **Ministério da Saúde**, por meio da divisão do então Ministério da Educação e Saúde em dois: Ministério da Saúde e Ministério da Educação e Cultura. O **Ministério da Saúde** ficou responsável por todas as ações de vigilância sanitária, as quais eram extremamente centralizadoras e burocráticas. Simultaneamente, as descobertas nos campos da bacteriologia e terapêutica, no período entre a Primeira e a Segunda Guerra Mundial, levou à necessidade de reestruturação da vigilância sanitária (VISA). As atribuições da VISA cresceram devido à reestruturação e ao crescimento econômico apresentados no Brasil nesse período.

A partir da promulgação da Constituição Federal de 1988, o Estado passa a ter o papel de provedor da saúde da população. A lei n. 8.080, conhecida como “Lei

Orgânica”, dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, e foi promulgada em 19 de setembro de 1990. Essa Lei compreende as ações e os serviços de saúde executados por pessoas naturais ou jurídicas de direito público ou privado em todo o território nacional.



Refleta

A lei n. 8.080/1990 determina que, entre as ações do SUS, estão incluídas aquelas que envolvem a fiscalização e a inspeção de alimentos, águas e bebidas para o consumo humano, além de todas as ações de vigilância sanitária.

Sendo assim, a produção e comercialização de alimentos, por tratarem de bens de consumo e serviços diretamente relacionados à saúde, estão inseridas no âmbito de competências do SUS e da vigilância sanitária.



Assimile

Entre as atuais áreas de atuação da vigilância sanitária no país estão:

Locais de preparo e comércio de alimentos: açougues, mercearias, padarias, restaurantes, bares e supermercados.

Locais de lazer: privados e públicos.

Indústria: de cosméticos, medicamentos, produtos para a saúde e saneantes.

Laboratórios: banco de sangue e hemoderivados.

Defensivos agrícolas: indústria e postos de venda desses produtos.

Clínicas e todos os lugares que façam uso de **radiação ionizante** para fins diagnósticos.

Portos, aeroportos e fronteiras.

A regulamentação do SUS traça diretrizes descentralizadoras para a saúde pública e, mediante isso, as esferas de governos estaduais e municipais executam ações de vigilância sanitária, inclusive legislando sobre a matéria, quando necessário.

Em 1999, atendendo às disposições do SUS no tocante a ações de vigilância sanitária, foi promulgada a lei n. 9.782/1999, que define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) e cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).



Assimile

A Anvisa é uma autarquia sob regime especial, vinculada ao Ministério da Saúde, com sede no Distrito Federal, com prazo de duração indeterminado e atuação em todo o território nacional. A agência possui autonomia financeira, independência administrativa e estabilidade de seus dirigentes.

A sua criação representa um grande avanço para a saúde pública, principalmente na área de alimentos, incluindo não só ações de fiscalização e controle, como também de orientação e informação aos produtores e consumidores.

As medidas sanitárias executadas pelos agentes da Anvisa podem ser divididas em dois tipos: medidas preventivas e medidas decorrentes do processo administrativo sanitário; elas representam as ações fiscais e administrativas que são tomadas para proteger a população de um risco sanitário.

Medidas preventivas: são tomadas quando existem provas ou evidências suficientes de que uma conduta pode causar agravos à saúde. Dessa maneira, e suplantadas pelo princípio da precaução, podem ser adotadas ações como:

- a) Paralisação da fabricação de determinado produto.
- b) Comercialização e/ou uso de determinado produto.
- c) Interdição parcial ou total de um estabelecimento e/ou produto.

As medidas supracitadas visam deter a exposição da população a riscos até que seja concluída a investigação. Essas medidas abrangem todo o território nacional e são publicadas no Diário Oficial da União, por meio de Resoluções Específicas.

Medidas administrativas: ocorrem quando, no ato de uma investigação técnica, forem obtidas provas da existência de infração sanitária. Nesse caso, um Processo Administrativo Sanitário (PAS) deve ser instaurado imediatamente, o que possibilita o amplo direito de defesa para a empresa autuada.

As autoridades competentes estabelecem penalidades sanitárias no caso de condenação de empresas após a conclusão do processo administrativo, tais como:

- a) Advertência e/ou cancelamento da autorização de funcionamento da empresa.
- b) Advertência e/ou cancelamento da autorização de registro do produto.
- c) Aplicação de multas que variam de R\$ 2 mil a R\$ 1,5 milhão.



Pesquise mais

Nos links a seguir há uma revisão expositiva da história da saúde pública/vigilância sanitária no Brasil, que traz toda a evolução sanitária desde a época do Brasil Colônia:

Disponíveis em: <www.proac.uff.br/visa/sites/default/files/historia.pdf> e <www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 28 fev. 2016.

A Anvisa poderá delegar aos Estados, aos Municípios e ao Distrito Federal a execução de algumas ações que sejam próprias a ela.

Sobre o controle de alimentos, ao longo dos anos, diversas medidas têm sido regulamentadas a fim de garantir a qualidade dos alimentos, desde regulamentos técnicos específicos até normas de caráter geral, aplicáveis a todo tipo de indústria alimentícia. Atualmente, a fiscalização de alimentos tem como ponto fundamental o Sistema de Análise de Perigos em Pontos Críticos de Controle (APPC), que será estudado ao longo do curso de Nutrição, estabelecido pelo Ministério da Saúde em 1993, a partir da Portaria n. 1.428.

A Portaria supracitada aprova o "Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos", as "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos" e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos"

Em 1997, a Secretaria de Vigilância Sanitária, por meio da Portaria n. 326/1997, da SVS/MS, aprovou o "Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos".

Esse regulamento se aplica (quando for o caso) a toda pessoa física ou jurídica que possua, pelo menos, um estabelecimento no qual sejam realizadas algumas das atividades seguintes:

1. Produção e industrialização de alimentos.
2. Fracionamento de alimentos.
3. Armazenamento de alimentos industrializados.
4. Transporte de alimentos industrializados.

Em 2004, a Anvisa publicou a RDC n. 216, que corresponde às boas práticas aplicadas aos serviços de alimentação, que devem ser atendidas por restaurantes industriais ou empresas que produzem refeições em larga escala, até por bares, padarias, supermercado etc., que servem refeições comerciais ou vendem alimentos industrializados.



Exemplificando

Você já ouviu notícias que informavam sobre a interdição de restaurantes? Infelizmente, esse tipo de notícia é cada vez mais comum. O medo e a desconfiança do consumidor crescem diante de relatos da vigilância sanitária sobre os motivos de interdição dos estabelecimentos que fornecem refeições fora do lar, como: restaurantes, bares e lanchonetes. Fezes de ratos nas panelas e utensílios, alimentos mal acondicionados, podres, vencidos, sem data de validade e a má higiene do local são os motivos mais comuns que levam à interdição pela vigilância sanitária em alguns estabelecimentos pelo Brasil. Já se perguntou por que isso acontece nesses estabelecimentos?

No decorrer do curso de Nutrição, você, aluno, terá a oportunidade de estudar com maior aprofundamento as normas e legislações pertinentes a cada área de atuação que abrange as exigências da vigilância sanitária de alimentos.

Nesta seção você aprendeu os princípios sobre a história do sistema de vigilância sanitária de alimentos e sobre a lei n. 8.080, de 19 de setembro de 1990. Também aprendeu algumas normas e regras que são regidas pela lei; e, por fim, os direitos e obrigações de cada indivíduo sobre suas atitudes e responsabilidades enquanto cidadão, sendo todos respaldados pela lei. A partir de agora, sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre a história do sistema de vigilância sanitária de alimentos, no qual você aprendeu sobre direitos e obrigações do profissional da saúde, vamos resolver a situação-problema apresentada no “Diálogo aberto” desta seção sobre a atuação de alguns estabelecimentos comerciais pelos fiscais da vigilância sanitária de alimentos.



Atenção

A situação que ocorreu com esses estabelecimentos comerciais, infelizmente, é muito comum; para você conseguir resolvê-la, é preciso ter conhecimento da Portaria n. 326/1997 da SVS/MS, que

aprova o “Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”. Nessa Portaria, encontram-se todas as técnicas e condições higiênico-sanitárias pertinentes aos estabelecimentos comerciais que trabalham com alimentos.

Pensando na situação exposta na situação-problema, houve quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatória por lei, a qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos. A portaria n. 326/1997 da SVS/MS aprova o regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação. Outra lei infringida foi RDC n. 216, que corresponde às boas práticas aplicadas aos serviços de alimentação. Mediante tais situações, os fiscais tomaram medidas preventivas de interesse sanitário, que são adotadas quando existem indícios ou evidências suficientes de que há uma irregularidade que pode causar danos à saúde, e medidas administrativas, que ocorrem quando, em uma investigação de queixa técnica, forem obtidas provas da existência de uma infração sanitária; nesse caso, deve ser instaurado um Processo Administrativo Sanitário (PAS), possibilitando o amplo direito de defesa à empresa autuada.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Vistoria dos fiscais da VISA

Descrição da situação-problema

Fiscais da vigilância sanitária (VISA) interditaram, nesta tarde, a panificadora (X), por funcionar em condições precárias de higiene. Durante a vistoria, os fiscais notificaram produtos vencidos, mal acondicionados e sem rótulo; além disso, havia mofo e teias de aranhas em toda a estrutura física onde é feita a manipulação dos alimentos, e fezes de ratos e insetos em alimentos prontos para serem vendidos. O responsável pelo estabelecimento foi levado para a Delegacia do Consumidor. As padarias (Y) e (Z) também foram inspecionadas pelos fiscais. A padaria (Y) teve apenas a área de produção das refeições interditada. Já a padaria (Z) não apresentou irregularidades. Os estabelecimentos autuados deverão responder a processo administrativo-sanitário, que pode resultar em multa, cujo valor varia entre R\$ 50 mil e R\$ 500 mil.

**Lembre-se**

A Portaria n. 326/1997, da SVS/MS aprova o “Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”.

Resolução da situação-problema

Para resolver a situação-problema é importante lembrar da Portaria n. 326/1997, da SVS/MS, que aprova o “Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos”, da RDC n. 216. Tal resolução corresponde às boas práticas, aplicadas aos serviços de alimentação, que devem ser atendidas por restaurantes industriais ou empresas que produzem refeições em larga escala, e também por bares, padarias, supermercados etc. que servem refeições comerciais ou vendem alimentos industrializados, e às medidas que podem ser tomadas pelos fiscais da VISA.

**Faça você mesmo**

Com base nessa situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida, que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça, e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Não são exemplos de áreas e locais de atuação da vigilância sanitária:

- a) Lojas e áreas de lazer.
- b) Locais de desastres naturais.
- c) Redes de esgoto e fornecimento de água.
- d) Locais de produção e comercialização de alimentos.
- e) Investigação de reações adversas a medicamentos, sangue e produtos de uso hospitalar.

2. O nome do órgão nacional regulamentador do sistema de saúde, criado pela lei n. 9.782, de 26 de janeiro de 1999, com a finalidade institucional de promover a proteção da saúde da população por

intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, é:

- a) ANS.
- b) Anvisa.
- c) OMS.
- d) SUS.
- e) INSS.

3. Qual normatização regula, em todo o território nacional, as ações e serviços de saúde, executados isolada ou conjuntamente, em caráter permanente ou eventual, por pessoas naturais ou jurídicas de direito público ou privado?

- a) Emenda Constitucional n. 29.
- b) Constituição Federal.
- c) Lei n. 8.080/1990.
- d) Lei n. 8.142/1990.
- e) Portaria n. 1.428.

Seção 1.2

Esterilização e desinfecção

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à segunda seção de estudos deste livro didático!

A partir de agora você iniciará seus estudos sobre “esterilização e desinfecção”. Aprenderá nesta seção sobre controle de crescimento bacteriano, práticas e condutas de esterilização, desinfecção e antisepsia, e as ações dos agentes físicos e químicos sobre as bactérias. Além disso, conhecerá quais as medidas teóricas e práticas para evitar a contaminação microorgânica antes, durante e após a manipulação do alimento.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” desta unidade, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos do curso superior de Nutrição tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação real de rotina de trabalho para agentes e fiscais de vigilância sanitária de alimentos. O segundo grupo deverá discutir as condutas de esterilização e desinfecção que o profissional da saúde deve usar para evitar o tipo de contaminação exposto no problema.

Há uma urgente necessidade de preparar adequadamente os profissionais dedicados ao controle sanitário da alimentação pública, incluindo não só a área de saúde pública, mas também o público consumidor e os manipuladores de alimentos, que devem ser esclarecidos quanto às suas responsabilidades na preservação de sua saúde e de toda a coletividade.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a situação exposta, serão apresentados, de forma contextualizada no item “Não pode faltar” desta seção, assuntos como formas de controle do crescimento bacteriano, técnicas de esterilização, desinfecção e assepsia, e as ações dos agentes físicos e químicos sobre as bactérias. Dessa forma você terá embasamento para responder às questões de controle higiênico-sanitário de alimentos.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar esterilização e desinfecção? Como pôde perceber na situação real apresentada no “Convite ao estudo”, durante nosso trabalho lidamos constantemente com as mais diversas situações de contato com pessoas, lugares e equipamentos, e com esses, os microrganismos; sendo assim, o controle de crescimento dos microrganismos é muito importante e necessário nas áreas da Ciência da Saúde. Como exemplos da aplicação dos métodos de controle, temos a prevenção das infecções, intoxicações ou toxico-infecções alimentares por procedimentos e técnicas adequados, que vão desde o modo correto de lavar as mãos até os processos indicados, de acordo com normas do Ministério da Saúde, para limpar, esterilizar e/ou desinfetar equipamentos, utensílios e superfícies de manipulação de alimentos e estocagem dos alimentos. O processamento correto garante o nível adequado de microrganismos, o que é imprescindível para a segurança alimentar.

Vemos a importância da correta aplicação de métodos químicos e físicos de controle dos microrganismos em várias áreas. A escolha de métodos depende dos objetivos, do tipo de material e do nível de controle desejado. Nesta seção veremos vários métodos de esterilização e desinfecção, dando ênfase à área de alimentos e ciências da saúde.

Para entendermos todo o funcionamento desta seção, vamos aprender alguns conceitos importantes a respeito do controle do crescimento bacteriano, os quais serão utilizados ao longo do curso.

Higienização/sanitização: é todo procedimento aplicado ao controle microorgânico, que visa eliminar e/ou reduzir os perigos microbiológicos até níveis suportáveis, diminuindo, assim, os riscos de transmissão de agentes patogênicos causadores de doenças. Dependendo da ocasião, a higiene pode compreender uma simples lavagem, havendo a necessidade de uma desinfecção ou, em ocasiões mais críticas, até de uma esterilização.

Limpeza: é importante no controle do crescimento dos microrganismos. Trata-se de um procedimento que resulta na simples remoção mecânica de sujidades ou resíduos macroscópicos de natureza orgânica ou inorgânica. Tais compostos poderiam ser usados como nutrientes pelos microrganismos, por exemplo, sangue, detritos alimentícios, soro etc. A limpeza poderá ser feita por meio da fricção mecânica com água, sabão, esponja, pano ou escova. Após a limpeza, deve-se realizar o enxágue com água potável e corrente.

Lavagem: é o procedimento que envolve a utilização de água e sabão ou detergentes para melhor remoção das sujidades, podendo ou não reduzir os patógenos até níveis suportáveis.

Descontaminação: é uma limpeza realizada com agentes físicos ou químicos com objetivo de remover contaminantes, por exemplo, fluidos e secreções orgânicas com agentes infecciosos. Pode ser feita por fricção com esponja, pano ou escova embebidos em produtos químicos.

Sanitização: é o tratamento que leva à diminuição da vida microbiana **nos utensílios alimentares e equipamentos** de manipulação de alimentos até os níveis seguros de saúde pública. Esse processo é realizado com agentes químicos que podem ser sabão ou detergente e desinfetantes do tipo sanitizantes.

Desinfecção: é a eliminação parcial (ou redução) do número de microrganismos (principalmente patogênicos) presentes em um **material inanimado**. A desinfecção é feita por agentes químicos – os desinfetantes.

Antissepsia: é semelhante à desinfecção, entretanto relacionada a **tecidos vivos e superfícies externas, como pele e algumas mucosas**. É realizada por meio de agentes químicos, chamados de antissépticos, em concentrações adequadas para esses tecidos. Os antissépticos mais utilizados para a higienização das mãos, são: álcoois, clorexidina, compostos de iodo, iodóforos e triclosan.

Esterilização: é a eliminação **total** dos microrganismos e esporos. Métodos químicos e físicos podem ser usados para tal. Existem diferentes alvos nos quais os agentes químicos e físicos podem atuar impedindo o crescimento dos microrganismos, eliminando-os totalmente.



Assimile

A higienização envolve obrigatoriamente dois processos:

Limpeza + desinfecção ou sanitização.



Refleta

A antissepsia é uma operação proposta à redução da carga microorgânica presente na pele, por meio de agente químico, após lavagem, enxágue e secagem das mãos. Julgue se essa afirmação está certa ou errada.

1.2.1 Métodos de controle do crescimento microbiano

Ao iniciar um método para diminuir os microrganismos, sobretudo os patogênicos, presentes em uma cozinha ou nos alimentos, devemos pensar na utilização de substâncias antimicrobianas, principalmente, desinfetantes e antissépticos. Porém, é sabido que não existe uma substância que elimine os microrganismos sem causar problemas para as nossas células. Sendo assim,

existem diferentes **alvos celulares** em que os agentes químicos ou físicos podem atuar, impedindo o crescimento dos microrganismos ou eliminando-os totalmente.

O crescimento celular pode ser controlado por diferentes métodos. O Quadro 1.1 resume os principais métodos físicos e químicos usados para controle do crescimento dos microrganismos.

Quadro 1.1 | Métodos físicos e químicos para o controle de microrganismos

Métodos para o controle de microrganismos	
Métodos Físicos	Temperatura, radiação, filtração, dessecação, remoção de O ₂ , vibração ultrassônica.
Métodos Químicos	Desinfetantes, antissépticos, preservativos usados em alimentos.

Fonte: elaborado pelo autor.



Pesquise mais

Os links a seguir apresentam uma revisão expositiva sobre o controle microbiano por agentes físico e químicos.

Disponível em: <<http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/agentes-fisicos-e-quimicos-do-controle-microbiano.pdf>>, e também o portal da Anvisa: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Saneantes>>. Acesso em: 28 mar. 2016.

Métodos físicos: são muito utilizados para promover a descontaminação, a desinfecção e a esterilização. Os métodos frequentemente empregados para atingir esses objetivos usam como princípio o calor, as radiações e a filtração, e serão abordados nesta seção, pois são os mais utilizados.

O primeiro método físico para o controle de microrganismos que estudaremos é a **temperatura** (Quadro 1.2), esta pode ser dividida em: calor seco, calor úmido e baixas temperaturas. O Quadro 1.2 apresenta o mecanismo de ação e o uso desse método.

Quadro 1.2 | Método físico de temperatura para controle microorgânico

Agente	Método	Mecanismo de ação	Uso
Calor úmido	Autoclave	Desnaturação de proteínas e dissolução dos lipídeos.	Vidrarias, meios de cultura, utensílios e instrumentos metálicos.
	Pasteurização	Desnaturação de proteínas e dissolução dos lipídeos.	Alimentos: cerveja, leite, queijos etc.

(continua)

	Água em ebulição (100°C/20 min.)	Destrói as formas vegetativas e alguns endósporos (depende do tempo e da espécie da bactéria).	Não é um método de esterilização, apenas permite o controle do crescimento microbiano. É usado em utensílios e bandejas.
Calor seco	Estufa	Desnaturação de proteínas e oxidação de componentes do protoplasma celular.	Instrumentos metálicos, pós, óleos e vidrarias.
	Flambagem	Desnaturação de proteínas e oxidação do protoplasma celular.	Esterilização de alças e agulhas microbiológicas.
Baixas temperaturas	Refrigeração (0 a 7°C)	Diminuição do metabolismo, taxa de crescimento e atividade enzimática.	Preservação de alimentos.
	Congelamento (abaixo de 0°C)	Diminuição do metabolismo, taxa de crescimento e atividade enzimática, formação de cristais de gelo.	Preservação de alimentos.

Fonte: elaborado pelo autor.

A **radiação** é o segundo método físico de controle microbiológico, constitui um método eficaz para reduzir ou eliminar os microrganismos. Existem vários tipos de radiações eletromagnéticas, como o raios X e outras radiações ionizantes, ultravioleta, feixes de elétrons e micro-ondas. As mais utilizadas são a **Radiação Ultravioleta**, que leva à formação de dímeros de timina no DNA dos microrganismos, muito utilizada em controle microbiológico em superfícies e fluxo laminares; e a **Radiação Ionizante**, que leva à formação de radicais livres, os quais danificam as moléculas e os ácidos nucleico das células dos microrganismos; ambos os métodos são utilizados na esterilização de plásticos, produtos farmacêuticos e preservação de alimentos.

O terceiro método físico de controle de crescimento microrgânico é a **Filtração**, que é recomendada para materiais termolábeis em solução, sobretudo na descontaminação do ar, em fluxos laminares e sistemas de ventilação nos quais o controle microbiológico é especialmente importante, como salas de manipulação de nutrição parenteral e manipulação de certos alimentos. Os métodos mais utilizados são o **Filtro para ar HEPA**, que consegue reter partículas maiores que 0,3 µm e é utilizado no controle microbiológico em fluxos laminares e salas de cirurgia, e o **Filtro para líquidos**, que consegue reter partículas maiores que 0,25 µm (organismos procariotos) e é utilizado para esterilização de meios de cultura e outras substâncias termolábeis.

Os **métodos químicos** de controle microrgânico consistem em substâncias químicas de origem natural ou sintética usadas para eliminar ou inibir o crescimento dos microrganismos. As respostas dos microrganismos aos agentes químicos

variam em relação aos fatores, tais como pH, temperatura, presença de matéria orgânica, fase de multiplicação e até mesmo a presença de outro agente químicos.



Exemplificando

Você sabia que os produtos mais utilizados no processo de desinfecção/ sanitização na área de alimentos têm como princípios ativos o cloro (na forma de hipoclorito de sódio), o ácido peracético, o quaternário de amônia, o iodo, o peróxido de hidrogênio e a clorexidina? São esses agentes que iremos estudar agora.

No Quadro 1.3, pode-se observar a classificação dos agentes químicos pela sua categoria, mecanismos de ação e uso diferenciado para os processos supracitados.

Quadro 1.3 | Agentes químicos e mecanismo de ação nos microrganismos

Categorias	Mecanismo de ação	Agente químico	Uso
Halogênios	Oxidam grupos -SH, -NH ₂ de proteínas	Cloro e hipoclorito de sódio. Liberam cloro ativo	Desinfetante: utilizado em produtos de hortifrut, em lactários e qualquer superfície contaminada.
		Iodo	Desinfetante: equipamentos metálicos de cozinha industrial e bancadas.
Biguanidas	Danificam a membrana citoplasmática	Clorexidina	Antisséptico: pele e mucosas.
Peroxigênios	Agentes oxidantes. Ação na membrana citoplasmática, no DNA e em outros componentes celulares	Peróxido de hidrogênio	Desinfetante: ação bactericida e viricida, podem ser aplicados em qualquer superfície de contato de trabalho. Esterilizante: indústria de alimentos para filtros e tubulações.
		Ácido peracético	Desinfetante: grande variedade de materiais e instrumentos. Pode ser aplicado em superfície de aço inox, plásticos e borrachas.
		Ozônio	Desinfetante: desinfecção da água.
Agentes surfactantes: quaternários de amônia	Danos na membrana citoplasmática	Cloreto de benzalcônio	Desinfetante: usado em superfícies e equipamentos na área de alimentação.

(continua)

Álcoois	Desnaturação de proteínas, desorganização dos lipídeos de membrana	Álcoois etílico e isopropílico	Desinfetantes: desinfecção de artigos e superfícies Antisséptico: pele.
---------	--	--------------------------------	--

Fonte: elaborado pelo autor.

Nesta seção você aprendeu os princípios sobre a esterilização e desinfecção. Também aprendeu sobre o controle microbiano e a atuação dos agentes físicos e químicos sobre as bactérias. A partir de agora, sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre “esterilização e desinfecção”, no qual você aprendeu sobre o controle de crescimento bacteriano, diferenças entre esterilização, desinfecção e antisepsia, e ação dos agentes físicos e químicos sobre as bactérias, vamos agora resolver a situação-problema apresentada no “Diálogo Aberto” desta seção, em que a professora expôs uma determinada situação sobre a atuação de alguns estabelecimentos comerciais pelos fiscais da vigilância sanitária de alimentos e solicitou que o segundo grupo de alunos discutisse sobre as condutas de esterilização e desinfecção que o profissional da saúde deve usar para evitar o tipo de contaminação exposto no problema.

Para resolver a situação-problema vamos fixar a ação dos agentes químicos e relembrar alguns conceitos importantes:



Atenção

Desinfetantes: são os produtos que possuem uma determinada concentração de princípios ativos capazes de exterminar os microrganismos existentes numa superfície de contato.

Sanitizantes: são os produtos que possuem menor concentração de princípios ativos capazes de reduzir, mas não eliminar, os microrganismos existentes numa superfície de contato.

Desinfecção: é o procedimento para eliminação de microrganismos causadores ou deterioradores dos alimentos (bactérias patogênicas), por meio de agentes químicos ou físicos.

Sanitização: é o procedimento de redução do número de

microrganismos aderidos às instalações, maquinários e utensílios a níveis toleráveis que não resultem em contaminação do alimento a ponto de deterioração ou danos à saúde da coletividade, por meio de agentes químicos ou físicos.

Pensando na situação exposta, vimos a ocorrência da quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias que são obrigatórias por lei para qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos. Caro aluno, para resolver essa situação, em primeiro lugar aponte as irregularidades observadas. Em seguida, enfatize a importância da limpeza correta do estabelecimento, ressaltando as diferenças entre os conceitos de higienização, sanitização e desinfecção. Por último, reforce o mecanismo de atuação, alvos celulares, entre os agentes químicos e físicos e o controle da carga microbiana.

Sobre a situação desses estabelecimentos que foram autuados pelos fiscais, reflita: qual foi o tipo de medida que os fiscais tomaram? De que forma o profissional da saúde poderia evitar o tipo de contaminação exposto no problema?

Diante da situação exposta, vimos um exemplo do cotidiano da quebra de conduta de condições higiênico-sanitárias, que, como vimos na Seção 1.1, são obrigatórias por lei, devido a Portaria n. 326/1997, da SVS/MS, que aprova o "Regulamento Técnico sobre Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos", e devem ser aplicadas a qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos.

A irregularidade do mercado (X) foi manter os alimentos refrigerados de forma irregular, não respeitando os limites mínimos da faixa de refrigeração de 0° a 7°C. A refrigeração é um método físico de controle de crescimento microbiano, que utiliza a temperatura como agente, e tem como mecanismo de ação a redução do metabolismo microbiano, da taxa de crescimento celular e atividade enzimática, ocasionando a preservação do alimento. Se a temperatura de refrigeração não for respeitada, ocorrerá a proliferação da flora patogênica e aumento da carga microbiana, colocando em risco a segurança alimentar do produto e dos seus comensais. Uma consequência imediata dessa prática é a intoxicação e tóxico-infecção alimentar.

A irregularidade da pastelaria (Y) foi o armazenamento inadequado e fora dos padrões higiênicos estabelecidos pela legislação. Fazem parte dos padrões higiênicos a temperatura correta de armazenamento do alimento e os aspectos de limpeza do lugar onde os alimentos irão ser acondicionados.

Via de regra, nos locais onde os alimentos são manipulados, o padrão de limpeza deve ser de excelência, não havendo qualquer resíduo de sujeira, pois esta é a porta

de entrada para os microrganismos patógenos que causam as doenças transmitidas a partir da ingestão de alimentos.

Alguns cuidados devem ser tomados para a limpeza de uma cozinha industrial, tais como: a utilização de produtos, acessórios e equipamentos destinados a esse tipo de processo, que visa coibir a formação de culturas reprodutivas de germes e bactérias. Tudo que será usado na limpeza desse ambiente, em hipótese alguma, poderá ser usado na limpeza de outros.

Sujidades incrustadas são usualmente encontradas em uma cozinha, tais como: gorduras, restos de comida, migalhas, doces, temperos, poeira, restos de matérias-primas e uma gama de componentes que podem servir de substratos, ou seja, nutrientes para as bactérias.

O objetivo da limpeza é restaurar os padrões de higiene e limpeza nos locais de manipulação de alimentos. O piso da cozinha deve ser lavado após o término dos intervalos; vale ressaltar que durante o preparo das refeições o ambiente deve ser mantido em ordem.

A limpeza da cozinha, deve-se diluir o detergente em água aquecida, utilizando um balde, e colocar a água limpa em outro recipiente. Em seguida, deve-se imergir a esponja ou pano na solução detergente (quaternário de amônia – danos na membrana citoplasmática) e iniciar a limpeza pelos locais mais altos, e logo imergir a esponja ou pano no balde com água para retirar os resíduos. Dessa forma, evita-se que a solução detergente fique com sujidades. Em seguida, deve-se utilizar a solução de detergente no piso e retirar o detergente das bancadas e do piso com o auxílio de um rodo. Iniciar o enxague com água priorizando os locais mais altos. Depois, o piso deve ser desinfetado com solução clorada (hipoclorito de sódio e cloro ativo – estes oxidam grupos $-SH$ e $-NH_2$ causando ação bactericida nos microrganismos) e secar naturalmente.

Agindo dessa maneira, conforme preconizado pela legislação, evitaremos a contaminação do ambiente e dos alimentos, garantindo a integridade e sanidade do alimento e a manutenção da segurança alimentar.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas

Vistoria em estabelecimentos comerciais

Descrição da situação-problema

Um estudo sobre as vistorias realizadas por fiscais da vigilância sanitária apontou alguns dos principais problemas de falta de higiene nos estabelecimentos comerciais. Esses problemas são referentes ao tratamento de água e esgoto, além de irregularidades com a manipulação dos alimentos, tais como: falta de higiene pessoal do colaborador, falta de uniforme apropriado e falta de limpeza da área de tratamento e manipulação dos alimentos. Diante dessa situação e do conjunto de erros, esquematize quais seriam as medidas para prevenir o controle microrrgânico nesses estabelecimentos e quais os métodos físicos ou químicos seriam mais convenientes para impedir o avanço microrrgânico. Como esses métodos físicos e químicos são capazes de prevenir o controle microrrgânico? Explique o mecanismo de cada um.



Lembre-se

A higienização envolve obrigatoriamente dois processos:

Limpeza + desinfecção ou sanitização.

Resolução da situação-problema

Caro aluno, em primeiro lugar, aponte as irregularidades observadas na situação. Em seguida, enfatize a importância da limpeza correta do estabelecimento ressaltando as diferenças entre os conceitos de higienização, sanitização e desinfecção. Por último, reforce o mecanismo de atuação, alvos celulares, entre os agentes químicos e físicos e o controle da carga microrrgânica.



Faça você mesmo

Com base nessa situação que você acabou de resolver, reflita, descreva uma situação parecida, que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento conhecido, e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. É considerado um método químico de controle de crescimento microrgânico:

- a) Filtração.
- b) Remoção de oxigênio.
- c) Clorexidine.
- d) Autoclave.
- e) Radiação inozinante.

2. Quanto ao descarte de resíduos de análises microbiológicas de alimentos, é correto:

- a) Não esterilizar vidrarias que forem submetidas à limpeza química.
- b) Esterilizar todas as vidrarias e utensílios imediatamente após o uso, de preferência em autoclave, antes de submetidos à limpeza ou descarte.
- c) Realizar a esterilização em autoclave somente das vidrarias oriundas de limpeza ineficiente.
- d) Lavar as vidrarias para eliminação dos resíduos de bolores e culturas de bactérias para posterior esterilização em autoclave.
- e) Esterilizar em autoclave todas as vidrarias, independentemente de uso, entre elas, balões volumétricos, pipetas graduadas, provetas e Erlenmeyers.

3. Dos itens relacionados a seguir, qual não corresponde a um saneante domínio sanitário?

- a) Inseticida.
- b) Detergente.
- c) Aditivo.
- d) Desinfetante.
- e) Quaternário de amônio.

Seção 1.3

Introdução à microbiologia e fisiologia bacteriana

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à terceira seção de estudos deste livro didático!

A partir de agora você iniciará seus estudos sobre microbiologia e fisiologia bacteriana e aprenderá, nesta seção, as características estruturais e morfológicas das bactérias, a fisiologia bacteriana e suas exigências nutricionais e ambientais de desenvolvimento, e a curva de crescimento microrgânico. Além disso, conhecerá os alvos celulares que impedem o desenvolvimento microrgânico.

Agora, vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” desta unidade, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos do curso superior de Nutrição tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação real de rotina de trabalho para agentes e fiscais de vigilância sanitária de alimentos. Quais foram os motivos de exigência nutricional e ambiental que levaram à proliferação dos microrganismos? Aponte as fases de crescimento microrgânico dessa situação.

A ciência da microbiologia estuda os microrganismos e suas atividades. Envolve o estudo da forma, estrutura, reprodução, fisiologia, do metabolismo e da identificação dos seres microscópicos. Inclui, também, o estudo de sua distribuição natural, suas relações recíprocas e com outros seres vivos, seus efeitos benéficos e prejudiciais sobre os homens e as alterações físicas e químicas que provocam em seu meio ambiente.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos desta seção, serão apresentadas, de forma contextualizada no item “Não pode faltar”, a fisiologia bacteriana, as exigências nutritivas e ambientais que proporcionam o seu desenvolvimento e crescimento celular. Dessa forma, torna-se possível tomar providências objetivando a integridade e bem-estar da coletividade.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar microbiologia e fisiologia bacteriana? Como pôde perceber na situação real apresentada no “Convite ao estudo”, durante nosso trabalho o controle de crescimento dos microrganismos é muito importante e necessário nas áreas da Ciência da Saúde. No mundo, existem diversos tipos de microrganismos, cada espécie com características biológicas diferentes, ou seja, diferentes no formato, no tamanho e na capacidade – capacidade esta de pôr em risco a saúde do homem em maior ou menor grau.

Os microrganismos são definidos como seres microscópicos, individualmente invisíveis a olho nu. São seres vivos dotados da maior diversidade biológica conhecida, tanto morfológica quanto fisiológica e ecológica. Podem apresentar as mais variadas formas celulares, são metabolicamente capazes de realizar todos os tipos de reações bioquímicas conhecidas e podem ser encontrados em praticamente todos os ambientes, dos mais simples aos mais complexos.

Os principais grupos microbianos conhecidos são: os vírus, as bactérias, as arqueas, as algas, os protozoários e os fungos. Os microrganismos são estruturas bastante organizadas, capazes de crescer e se reproduzir, e possuem DNA (ácido desoxirribonucleico), que é a molécula responsável pela hereditariedade. De acordo com a organização celular e estrutural, podem ser classificados em **procariotos** (células sem núcleo com membrana) e em **eucariotos** (células com núcleo com membrana), conforme o Quadro 1.4.

Quadro 1.4 | Os principais grupos de microrganismos e sua estrutura celular

Principais grupos de microrganismos	
Grupo	Organização celular
Vírus	Não apresentam estrutura celular
Arqueas – Bactérias	Célula procariótica
Algas – Protozoários – Fungos	Célula eucariótica

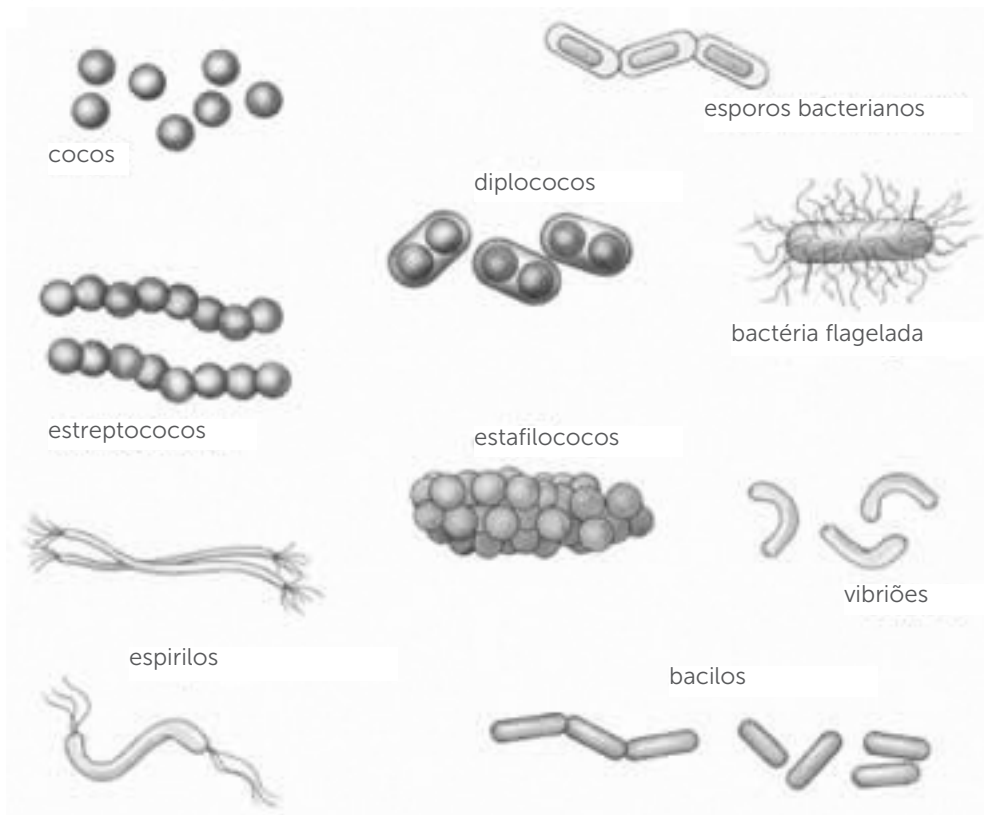
Fonte: elaborado pelo autor.

Principais tipos de microrganismos

Microrganismos procarióticos – bactérias: entre as principais características das células bacterianas estão suas dimensões, forma, estrutura e arranjo. Esses elementos constituem a morfologia da célula. As bactérias são seres unicelulares, com dimensões que em geral variam de 0,1 a 2 μm de diâmetro e 2 a 8 μm de comprimento. As espécies pertencentes a esse grupo apresentam diversas formas, que variam das esférica (cocos) a diversos tipos de bastonetes (curtos, longos, finos, espiralados e em curva – vibrião). Em alguns casos raros, podem ser encontradas

na forma de estrela ou quadrada. Podem apresentar diferentes arranjos, em pares, em tétrades (grupo de quatro), em grupo de oito, em cachos e até em cadeias. A Figura 1.1 apresenta algumas formas esquemáticas de bactérias.

Figura 1.1 | Morfologia esquemática de bactérias



Fonte: <<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/bacterias.htm>>. Acesso em: 25 mar. 2016.



Assimile

Entre as principais características das células bacterianas estão suas dimensões, forma, estrutura e arranjo. Esses elementos constituem a **morfologia** da célula.

As bactérias apresentam uma organização celular bastante simples, compreendendo uma parede celular rígida, formada de peptidoglicana, e uma membrana citoplasmática, composta basicamente de fosfolípidios e proteínas, além de glicerglicolípídeos. O DNA encontra-se no citoplasma, formando a região conhecida como **nucleoide**. Os ribossomos encontram-se dispersos no citoplasma. Externamente, podem apresentar o **glicocálice**, formado por glicoproteínas e

glicolípídeos, que são importantes na virulência e também na fixação a diversas superfícies. Algumas espécies apresentam flagelo de locomoção, e outras podem possuir fímbrias de adesão e **pilli**. Essas estruturas são responsáveis pela transferência do material genético no mecanismo de conjugação. A presença de endósporos em algumas espécies fornece a elas um mecanismo de resistência, principalmente ao calor, mas também à radiação, à falta de nutrientes e à falta de umidade. Na Figura 1.2 podemos observar a morfologia da bactéria com seus componentes.

A **fissão binária** é o processo mais comum de reprodução das bactérias, no qual uma célula se divide em duas. Em relação à nutrição, são capazes de utilizar compostos orgânicos ou inorgânicos como fonte de carbono e energia, assim como a energia luminosa, em vez da energia química.

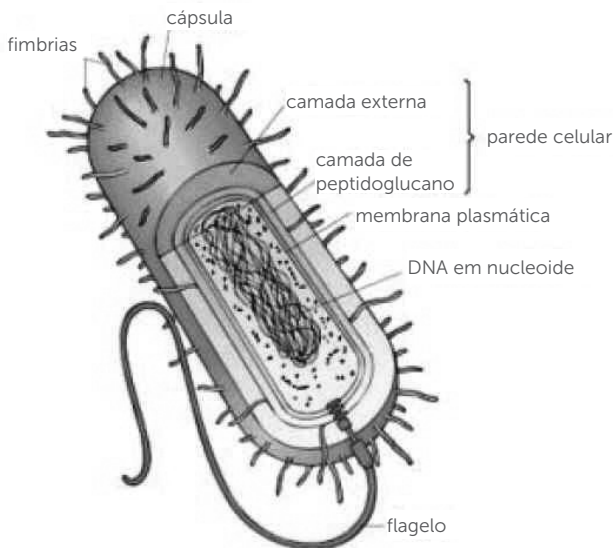


Pesquise mais

O link a seguir apresenta uma revisão expositiva das características estruturais da citologia, morfologia e fisiologia da célula bacteriana.

Disponível em: <<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2013/05/Morfologia-Citologia-e-Fisiologia-da-c%C3%A9lula-bacteriana-Aula-2-Microl.pdf>>. Acesso em: 26 mar. de 2016.

Figura 1.2 | Morfologia bacteriana e seus componentes



Fonte: <microbiologia-microuniverso.blogspot.com>. Acesso em: 26 mar. 2016.

As bactérias podem ser encontradas sobretudo no solo, na água doce e nos mares, mas também no corpo humano, nos animais, nas plantas e nos alimentos, entre outros. Entre os principais grupos de bactérias existentes podemos citar alguns mais comuns: bactérias Gram-positivas, bactérias Gram-negativas, espiroquetas, riquetsias, clamídias, micoplasma, micobactérias, nocardias, actinomicetos, bactérias verdes, bactérias púrpuras e cianobactérias (fotossintéticas).

Todas as formas de vida, dos microrganismos aos seres humanos, requerem certas exigências nutritivas, em termos de substâncias químicas indispensáveis ao seu crescimento e ao seu funcionamento normal.

As bactérias podem ser divididas em grupos com base em suas exigências nutritivas: **fototrópicos** (utilizam energia radiante, como as plantas verdes) e **quimitróficos** (dependem da oxidação de compostos químicos para a obtenção de energia, como os animais).

Sendo assim, as bactérias necessitam de alguns nutrientes para o seu desenvolvimento, tais como: fonte de **carbono**, em pequenas quantidades, como CO₂ (dióxido de carbono), açúcares e carboidratos; fonte de **nitrogênio**, já que as bactérias são muito versáteis, alguns tipos usam o nitrogênio atmosférico (N₂), outros crescem na presença de compostos nitrogenados inorgânicos como o KNO₃ (nitrato de potássio), e outros retiram o nitrogênio das proteínas e seus produtos de degradação (peptídeos e aminoácidos); **enxofre** e **fósforo** também são utilizados pelas bactérias na forma de compostos orgânicos de enxofre ou elementar, enquanto que o fósforo é utilizado na forma de fosfato; os **minerais** (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Co, PO₄²⁻) são utilizados pelas bactérias como elementos traços; além das vitaminas, que também estimulam o crescimento bacteriano.

Algumas bactérias conseguem sintetizar **vitaminas** que serão necessárias para seu crescimento a partir de outros compostos do meio.

Vale ressaltar que **todos** os componentes necessários ao crescimento bacteriano supracitados devem ser dissolvidos em água para melhor absorção.

Além das condições dos nutrientes, é preciso saber quais as condições físicas ambientais (temperatura, exigências atmosféricas, acidez e alcalinidade) para o melhor crescimento microrgânico. Os quadros a seguir (de 1.5 a 1.7) apresentam a classificação das bactérias de acordo com as exigências ambientais.

Quadro 1.5 | Classificação das bactérias de acordo com a temperatura de crescimento

Grupo de bactérias	Temperatura (°C) de crescimento		
	Mínima	Ótima	Máxima
Termófilos	35-45	45-65	60-90
Mesófilos	5-25	25-40	40-50
Psicrófilos	-5 a +5	10-15	15-20
Psicrotrófico	-5 a +5	25-30	30-35

Fonte: elaborado pelo autor.

Quadro 1.6 | Classificação das bactérias de acordo com as exigências atmosféricas

Grupo de bactérias	Características
Bactérias aeróbias	Crescem na presença de oxigênio livre (<i>Pseudomonas</i> , <i>Moraxella</i> etc.).
Bactérias anaeróbias	Crescem na ausência do oxigênio livre (<i>Clostridium</i>).
Bactérias anaeróbias facultativas	Crescem tanto na ausência quanto na presença de oxigênio (<i>Enterobactérias</i>).
Bactérias microaerófilas	Crescem em pequenas concentrações de oxigênio, em torno de 10% (<i>Lactobacilos</i> , <i>Streptococos</i>).

Fonte: elaborado pelo autor.

Quadro 1.7 | Faixa de pH para o crescimento bacteriano

Grupo de microrganismo	pH de crescimento		
	pH ótimo	pH máximo	pH mínimo
Bactérias patógenas	6,5 a 7,5	9,0	4,5

Fonte: elaborado pelo autor.



Exemplificando

Você sabia que na conservação do alimento um baixo pH inibe o crescimento microbiológico? Por meio de um processo de acidificação se reduz o pH do alimento para impedir o crescimento de microrganismos patógenos e são utilizados corretores de pH como o ácido cítrico, acetato de cálcio e ácido fumárico.

O tempo necessário para que a célula se divida ou para que a população bacteriana se duplique é conhecido como **tempo de geração**. Cada bactéria tem seu tempo de geração, e este muda conforme o aporte de nutrientes e condições físicas do meio ambiente. Sob condições ótimas, pode-se determinar o tempo de geração de uma cultura bacteriana e analisar seu crescimento. A curva de crescimento bacteriano demonstra o aumento do número de células bacterianas e é dividida em quatro fases:

1. **Fase lag**: período de adaptação da célula, que aumenta de tamanho além de suas dimensões normais, período de intensa atividade metabólica e **ausência de divisão celular**.

2. **Fase log**: período de intensa divisão celular em ritmo constante. Crescimento celular exponencial, de população uniforme.

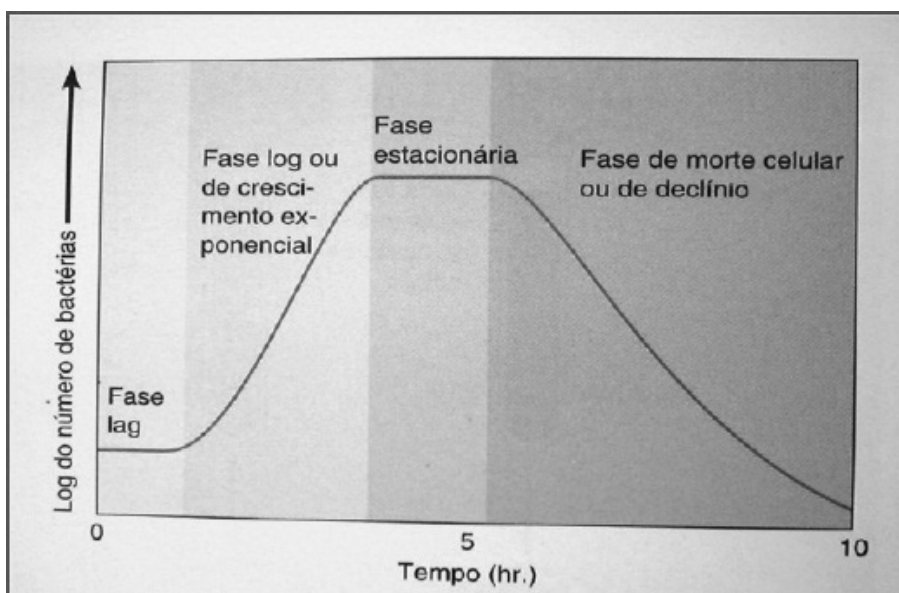
3. **Fase estacionária**: período de equilíbrio entre células viáveis e morte celular. A população bacteriana permanece constante sem crescimento devido à exaustão

de nutrientes e à produção de metabólitos tóxicos.

4. **Fase de declínio ou morte:** período de morte celular devido à depleção de nutrientes essenciais e ao acúmulo de metabólitos tóxicos. Esse período pode ser lento ou exponencial.

No Gráfico 1.1, pode-se observar a curva de crescimento bacteriano, que depende do aporte de nutrientes e das condições ambientais favoráveis ao crescimento celular.

Gráfico 1.1 | Gráfico da curva de crescimento bacteriano



Fonte: <<http://slideplayer.com.br/slide/85758/>>. Acesso em: 28 mar. 2016.

Em condições ideais de temperatura, pH, nutrientes, oxigênio e água, as bactérias se multiplicam a cada 15 ou 20 minutos, podendo, a partir de uma célula viva (bactéria), atingir 2.097.152 bactérias em sete horas, sendo que esse número pode ser atingido em tempo muito menor, porque nunca temos apenas um microrganismo, e sim uma quantidade que varia em relação às condições higiênicas dos locais e dos alimentos.



Refleta

O processo de multiplicação bacteriana é por divisão binária, em condições ideais, num tempo curto, pode-se chegar a uma quantidade que ultrapassa a dose infecciosa. *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica* são bactérias mesófilas, como a maioria dos patógenos

alimentares, sendo que a temperatura ótima para sua multiplicação varia entre 30° e 45°C. Assim, caso um alimento seja armazenado entre 5° a 15°C, os mesófilos devem se desenvolver bem lentamente. Sobre o exposto, qual seria a sua opinião?

Nesta seção, você aprendeu os princípios sobre as características estruturais e morfológicas bacterianas, suas exigências de crescimento e seu tempo de geração. A partir de agora, sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre microbiologia e fisiologia bacteriana, no qual você aprendeu sobre as características estruturais e morfológicas das bactérias, fisiologia bacteriana e curva de crescimento microrgânico, vamos agora resolver a situação-problema apresentada no “Diálogo aberto” desta seção sobre a atuação de alguns estabelecimentos comerciais pelos fiscais da vigilância sanitária de alimentos.

Para resolver essa situação-problema, vamos relembrar a situação real exposta no “Diálogo aberto”, na qual a professora apresentou uma situação real de rotina de trabalho para agentes e fiscais de vigilância sanitária de alimentos. Quais foram os motivos de exigência nutricional e ambiental que levaram à proliferação desses microrganismos? Aponte as fases de crescimento microrgânico dessa situação.



Atenção

Os alimentos podem ser contaminados mediante contato com utensílios, superfícies e equipamentos mal higienizados. Deve ser salientado que os microrganismos patógenos podem se manter em partículas de alimentos ou em água nos utensílios e superfícies mal higienizados, e, assim, encontrar nutrientes e condições ambientais propícias à multiplicação. Outro fator importante é o mal acondicionamento dos alimentos, pois como foi demonstrado nesta seção a temperatura é um fator determinante ao crescimento bacteriano, além das condições ambientais de pH, oxigênio e temperatura.

Pensando na situação-problema, vimos a ocorrência da quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatórias por lei a qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos. É importante salientar que as bactérias possuem vida própria e preferem ambientes úmidos, ou seja, alimentos que tenham algum teor de água, e também preferem alimentos ricos em proteínas (por exemplo: carnes, aves, peixes, moluscos, ovos, leite, queijo etc.). Além disso, os alimentos não se encontravam na temperatura correta de refrigeração, o que leva algumas bactérias a produzirem, em decorrência da sua multiplicação, as chamadas toxinas, que são substâncias de efeito tóxico para o homem. A oferta de nutrientes provenientes dos alimentos junto às condições ambientais favoráveis, no caso, a temperatura, levam ao crescimento exponencial (fase log), caracterizado por período de intensa divisão celular e em ritmo constante, de população uniforme. Em seguida, os microrganismos chegam à fase estacionária, na qual ocorre o equilíbrio entre células viáveis e morte celular. A população bacteriana permanece constante sem crescimento devido à exaustão de nutrientes e à produção de metabólitos tóxicos.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Surto em uma UAN (Unidade de Alimentação e Nutrição)

Descrição da situação-problema

Na UAN da empresa X, responsável pela produção de 1.100 refeições por dia, foi servido o seguinte cardápio: arroz integral, fricassê de frango e salada com tomate, alface e cebola. A carcaça de peito de frango foi desossada manualmente e cozida, em seguida a carne foi transferida para um vasilhame de aço inox aberto, deixada em temperatura ambiente (25°C) e pH neutro (7). No dia seguinte, a carne foi colocada em caldeira junto aos demais ingredientes para o cozimento. O fricassê de frango ficou pronto às 11h45min e foi servido das 12h às 13h30 min, armazenado em balcão térmico à temperatura de 37°C. Depois das 14h do mesmo dia, chegaram funcionários da empresa no departamento médico queixando-se de fortes dores abdominais, vômitos, calafrios e diarreias, num total de 600 acometimentos. Desse total, 20 funcionários foram hospitalizados.

**Lembre-se**

Em condições ideais de temperatura, pH, nutrientes, oxigênio e água, as bactérias multiplicam-se a cada 15 ou 20 minutos, podendo, a partir de uma célula viva (bactéria), atingir 2.097.152 bactérias em sete horas, sendo que este número pode ser atingido em tempo muito menor, porque nunca temos apenas um microrganismo, e sim uma quantidade que varia em relação às condições higiênicas dos locais e dos alimentos.

Resolução da situação-problema

Para resolver a situação-problema, é importante lembrar que os microrganismos são definidos como seres microscópicos, invisíveis a olho nu, e que requerem certas exigências nutritivas em termos de substâncias químicas indispensáveis ao seu crescimento e ao seu funcionamento normal. Sendo assim, comente sobre o processo de multiplicação bacteriana, as fontes nutritivas encontradas para a sua multiplicação, as condições ambientais favoráveis em relação ao aporte de oxigênio, pH e temperatura em que o alimento ficou exposto, principalmente ao grupo de bactérias favoráveis à multiplicação; e por último aponte as fases de crescimento microrgânico, dando ênfase a elas, principalmente em relação ao ápice de multiplicação celular e produção de toxinas.

**Faça você mesmo**

Com base nessa situação que você acabou de resolver, reflita, descreva uma situação parecida, que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento conhecido por você, e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Assinale a opção da estrutura que mantém a forma bacteriana:

- a) Parede celular.
- b) Citoplasma.
- c) Cápsula.
- d) Membrana plasmática.
- e) Mesossoma.

2. O microrganismo *Clostridium botulinum* é anaeróbio e não se desenvolve em pH < 4,0. Em relação a essa afirmativa, assinale a opção que não diz respeito ao microrganismo:

- a) Os alimentos em conserva pH < 4,0 são os principais veículos de transmissão desse patógeno.
- b) Latas estufadas são indicativos de contaminação desse patógeno.
- c) Esse patógeno se prolifera na ausência de oxigênio livre.
- d) A conservação em pH ácido impede a proliferação desse patógeno.
- e) A toxina botulínica promove paralisia dos músculos e morte.

3. A respeito de bacilos, pode-se dizer que são:

- a) Vírus em forma de bastonete.
- b) Bactérias esféricas, agregadas em fio.
- c) Bactérias em forma de bastonete.
- d) Hifas de fungos do grupo dos basidiomicetos.
- e) Fungos unicelulares e de forma alongada.

Seção 1.4

Técnicas microbiológicas bacterianas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à quarta seção de estudos deste livro didático!

A partir de agora você iniciará seus estudos sobre técnicas microbiológicas bacterianas. Nesta seção, terá a oportunidade de aprender sobre as técnicas de semeadura para diagnóstico microbiológico, técnicas de isolamento e crescimento bacteriano, além da bacterioscopia e coloração de Gram. Quais são os métodos utilizados para a contagem de microrganismos, ou seja, quais métodos permitem a sua quantificação e identificação por meio de uma reação colorimétrica?

Agora, vamos relembra a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” desta unidade, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos do curso superior de Nutrição tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação real de rotina de trabalho para agentes e fiscais de vigilância sanitária de alimentos. Discuta as possíveis técnicas de detecção e identificação desses microrganismos em alimentos. Como os funcionários dos estabelecimentos multados poderiam ter realizado uma ação preventiva para evitar a contaminação dos alimentos?

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a situação-problema exposta, serão apresentados, de forma contextualizada no item “Não pode faltar” desta seção, assuntos como técnicas de semeadura para diagnóstico microbiológico, técnicas de isolamento e crescimento bacteriano, bacterioscopia e coloração de Gram. Dessa forma, você terá embasamento para responder às questões propostas.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar técnicas microbiológicas bacterianas? Como pôde perceber na situação real apresentada no “Convite ao estudo”, durante nosso trabalho lidamos constantemente com as mais diversas situações de contato com pessoas, lugares e equipamentos e com esses os microrganismos; sendo assim, as técnicas de isolamento e contagem de microrganismos são muito importantes e necessárias às áreas da Ciência da Saúde. Na seção anterior, vimos que todos os microrganismos necessitam de uma fonte de energia para o seu crescimento. Além disso, os microrganismos também necessitam de fatores favoráveis ao seu crescimento, que podem ser divididos em: **fatores físicos** e **fatores químicos**.

Para facilitar o estudo das características dos microrganismos, faz-se necessário realizar seu isolamento em cultura pura. Para isso, necessitamos de um **meio de cultura** e de condições (fatores físicos e químicos) ótimos de incubação, que permitam o crescimento desejado e posterior identificação do microrganismo. A análise microbiológica dos alimentos é prevista por lei, Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001; tal resolução aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.

Meio de cultura: consiste em um material nutritivo, preparado em laboratório, que se destina ao cultivo artificial dos microrganismos e fornece os nutrientes indispensáveis ao seu crescimento. Pode ser líquido, sólido ou semissólido. Os meios líquidos são preparados com seus ingredientes em água purificada (destilada ou deionizada) e podem ser acondicionados em tubos de vidro, em Erlenmeyers ou em balões (conforme Figura 1.3). Os meios sólidos são acrescidos de um agente solidificante, **o ágar**, normalmente na concentração de 1 a 2%. **Ágar** é um polímero, o ácido poligalacturônico, extraído de algas marinhas, que é capaz de se fundir a cerca de 100°C e, ao se resfriar, solidificar a cerca de 40°C. Geralmente, é acondicionado em tubos de vidro na forma de ágar inclinado ou em placas de Petri (Figura 1.3). Já os meios semissólidos contêm ágar em concentrações menores, em torno de 0,3 a 0,5%, e normalmente são distribuídos em tubos de vidro na posição vertical (Figura 1.3).

Figura 1.3 | Meios de cultura líquido, sólido e semissólido



Fonte: <<https://bacilosnasopa.wordpress.com/tag/preparo-de-meio-de-cultura/>>. Acesso em: 11 abr. 2016.

Meios sintéticos e meios complexos: dependendo do tipo de microrganismo que será cultivado, o meio de cultura poderá ser **sintético**, também chamado de quimicamente definido. Nesse caso, todos os ingredientes são conhecidos, de composição química exata. São bastante úteis em trabalhos experimentais de laboratório. Por exemplo: **meio de caldo de glicose-sais minerais**; esse tipo de meio contém apenas o mínimo de ingredientes necessários ao desenvolvimento do microrganismo. Outro exemplo é o meio sintético mais elaborado para crescimento de microrganismos nutricionalmente mais exigentes; esse meio pode chegar a ter o total de 48 ingredientes, entre eles: duas fontes de Carbono (C), uma fonte de Nitrogênio (N), duas fontes de Fósforo (P), uma fonte de Enxofre (S), água, além de aminoácidos, purinas, pirimidinas, vitaminas e elementos-traço. O microrganismo nutricionalmente mais exigente é comumente conhecido como **fastidioso**. Alguns fatores de crescimento microbiano poderão ser acrescentados a esses meios, tais como: extrato de carne, peptonas, hidrolisados de proteína, caseína. Em geral, os **meios complexos** são adequados ao crescimento de microrganismos heterotróficos, como algumas bactérias comensais e patogênicas para homens e animais.

Meios seletivos e diferenciais: são utilizados para o isolamento de um grupo particular de microrganismos, ou seja, são meios de cultura adicionados de substâncias químicas que irão propiciar o desenvolvimento dos microrganismos de interesse e vão **inibir** o desenvolvimento dos microrganismos acompanhantes. Essa inibição pode ser obtida por diferentes substâncias, tais como: antibióticos, corantes, bile ou sais biliares. Por exemplo: o meio de **Thayer-Martin** é utilizado

para o isolamento de *Neisserias* patogênicas, que pode ser adicionado de uma mistura de inibidores, composta de vancomicina para a inibição de bactérias Gram-positivas, colistina para inibição de Gram-negativas e nistatina para inibição de fungos.

Os meios diferenciais são formulados para evidenciar uma característica bioquímica ou fisiológica do microrganismo de interesse, possibilitando diferenciar suas colônias das de outros microrganismos que se desenvolvam na mesma placa. A adição de um carboidrato e um indicador de pH ao meio de cultura permite evidenciar as colônias de microrganismos que produzam ácidos a partir da utilização desse carboidrato, pois a cor do indicador irá se modificar em função da acidificação do meio ao redor da colônia. Por exemplo: o **ágar MacConkey** é um meio utilizado para o isolamento de enterobactérias e outros bastonetes Gram-negativos relacionados. O **meio CLED** (cisteína, lactato, eletrólito deficiente) contém o indicador azul de bromotimol, nesse caso as bactérias lactose-positivas conseguem virar o indicador, antes verde, para amarelo em decorrência da produção de ácidos. O **ágar *Salmonella-Shigella***, ou **ágar-SS**, em virtude da presença de altas concentrações de sais biliares e citrato de sódio, torna-se seletivo para esses dois gêneros de bactérias enteropatogênicas. O **ágar sangue** é um ágar nutriente acrescido de sangue desfibrinado de carneiro, com o objetivo de enriquecer a sua composição e propiciar o desenvolvimento da maioria das bactérias patogênicas de importância médica, pois identifica as bactérias produtoras de hemolisinas, que são substâncias capazes de lisar as hemácias do meio de cultura, provocando o aparecimento de um anel claro ao redor da colônia.



Assimile

Meio de cultura: consiste em um material nutritivo, preparado em laboratório, que se destina ao cultivo artificial dos microrganismos e fornece os nutrientes indispensáveis ao seu crescimento. Pode ser líquido, sólido ou semissólido. Os meios podem ser sintéticos, complexos, seletivos e diferenciais.



Pesquise mais

Caro aluno, o link a seguir apresenta uma revisão expositiva sobre os principais tipos de meios de cultura usados em técnicas para diagnóstico microbiológico. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/bec047804fe4d6f2962bfecce77a031c/Modulo+005.pdf?MOD=AJPERES&attachment=true&id=1370522023073>>. Acesso em: 11 abr. 2016.

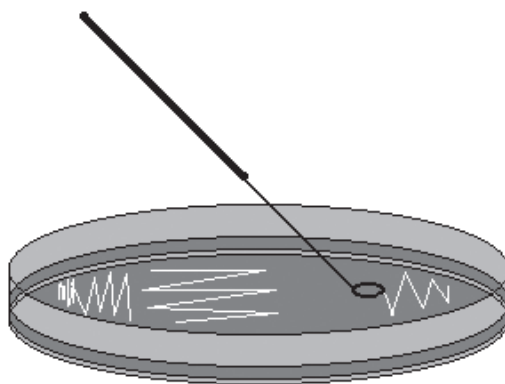
No artigo *Avaliação de métodos para detecção de Listeria em queijos*,

you will find microbiological analysis methods learned in this section. Available in: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000200001>. Access in: 11 abr. 2016.

Among the **techniques of isolation of microorganism in pure culture**, the most used are the **technique of streaking** and the **technique of dilutions in plate**. Both have as base the principle that a microbial cell isolated, when deposited in a suitable solid culture medium, will give rise to a macroscopically visible group called **colony** (a group of identical cells that have as origin a single cell or spore).

The technique of dilutions in plate has a double application, it can be used both for isolation and for counting of microorganism. The streaking technique consists in seeding, with the aid of an inoculation loop, a portion of the microorganism suspension, making on the surface of the medium a sequence of streaks not overlapping, going from the edges to the center of the plate, in three distinct sectors, so that the quantity of material contained in the loop is progressively smaller, as can be observed in Figure 1.4. In this way, at the end of the procedure, the microbial cells contained in the loop will be deposited on the surface of the medium separately from each other. After incubation for time and temperature adequate, each isolated cell will give rise to an isolated colony of identical cells.

Figura 1.4 | Técnicas de semeadura



Fonte: <<http://docplayer.com.br/3779117-Preparo-de-materiais-em-microbiologia-meios-de-cultura-usados-no-laboratorio-tecnicas-de-semeadura-e-coloracoes.html>>. Acesso em: 1 abr. 2016

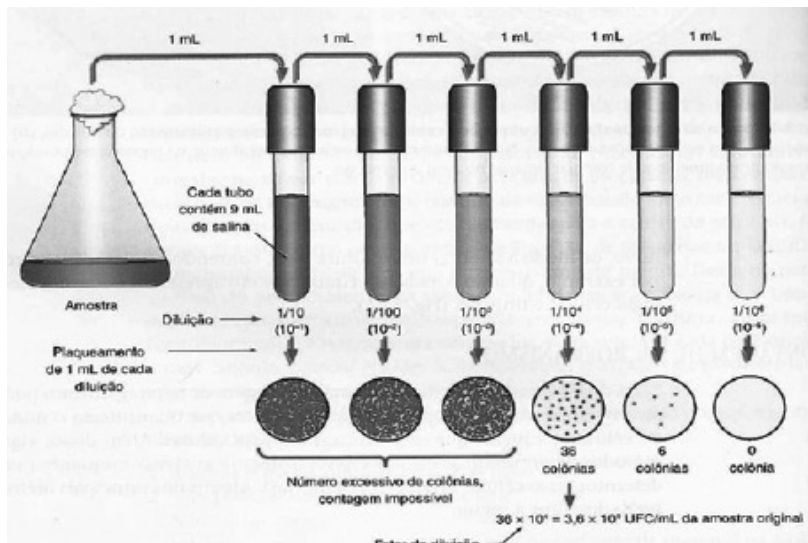
The success of the procedure previously presented will be guaranteed with the realization of the following steps: 1) perform the maximum number of streaks possible; 2) do not pierce or tear the agar medium; 3) do not return with the loop over the streaks, overlapping them; 4) start the seeding with a small quantity of material in the inoculation loop.

Contagem de microrganismos: o método pode ser dividido em dois grupos principais – os que quantificam o número de células e os que quantificam a massa celular. Além disso, alguns métodos determinam as células viáveis (somente as vivas), e outros determinam as células totais (vivas e mortas). Alguns dos principais métodos serão descritos a seguir:

1. Contagem em placas: é o principal método de contagem de células viáveis. É um método demorado, pois é necessário aguardar a multiplicação de uma célula isolada no meio sólido para que esta forme uma colônia macroscopicamente visível, a ser contada. Pode ser utilizado tanto para materiais com alta concentração microbiana, nesse caso sendo utilizado o método das diluições seriadas, quanto para materiais líquidos com pouca concentração microbiana, nos quais o método da filtração é o mais apropriado.

2. Método de diluições em placas: também conhecido como método das diluições seriadas, serve tanto para o isolamento quanto para a contagem de microrganismos. Esse método permite duas variantes: inoculação em superfície e inoculação em profundidade. A partir de uma amostra líquida (água, leite, urina ou outra) ou da homogeneização inicial da amostra em um diluente apropriado (solo, talco, carne ou outro), são realizadas diluições sucessivas, nas quais 1 mL de cada diluição é adicionado a 9 mL de salina, em sequência. Após plaqueamento e incubação, é feita a contagem na placa em que o número de colônias é mais apropriado. No exemplo da Figura 1.5, a contagem foi na diluição de 10^{-4} , na qual foram contadas 36 colônias, o que corresponde a 36×10^4 UFC/mL da suspensão original (UFC = unidades formadoras de colônias).

Figura 1.5 | Método de diluições em placa



Fonte: Vermelho et al. (2006).

3. Método da filtração: é utilizado para materiais líquidos, nos quais se espera uma pequena quantidade de microrganismos, como a água de abastecimento das cidades, que apresenta um baixo número de bactérias, pois é previamente tratada com cloro. Nesse método, volumes de cerca de 100 mL da amostra são filtrados em uma membrana porosa adequada, que deverá reter os microrganismos. Em seguida, ela é colocada na superfície de uma placa contendo o meio de cultura. A difusão dos nutrientes pela membrana permite que os microrganismos retidos multipliquem-se e formem colônias, que poderão então ser contadas.

4. Contagem direta em câmara de contagem: nesse método a suspensão microbiana, que deverá ser bastante densa, é colocada em uma lâmina especial, dentro de um poço com dimensões conhecidas, cujo fundo é quadriculado. Após a adição de uma laminula, ela é levada ao microscópio para a realização da contagem direta das células em vários campos visuais. Esse método fornecerá a contagem de células vivas e mortas, e não se aplica a qualquer microrganismo. Um exemplo de câmara de contagem é a de Petroff-hausser.

5. Método do número mais provável: é uma técnica estatística na qual volumes da amostra original, em geral entre 10 e 1 mL, ou seus correspondentes às diluições decimais, são inoculados em séries de tubos contendo um meio de cultura líquido apropriado. Após a incubação pelo tempo apropriado, conta-se o número de tubos nos quais é observado crescimento, ou reação diferencial típica, como a mudança de cor do indicador de pH ou a produção de gás em cada um dos tubos de cada série.

6. Turbidimetria: é um método indireto no qual são contadas células totais, a partir da turvação observada no meio líquido em que ocorre o crescimento microbiano. Quanto maior o número de células presentes, maior a turvação do meio. Para essa contagem, faz-se necessária uma curva-padrão para cada microrganismo estudado, na qual será relacionado o número de células conhecido com a turvação correspondente. O espectrofotômetro, ou colorímetro, é o aparelho mais utilizado para esse tipo de contagem.



Refleta

Você sabia que muitos fungos e bactérias liberam substâncias tóxicas aos homens e a outros animais? Mas nem sempre os alimentos contaminados têm sua qualidade sensorial modificada, no entanto a ocorrência de infecções alimentares é cada vez maior. Por isso devemos nos atentar para a data de validade de cada alimento, os dias em que deve ser consumido depois de aberto e as condições de armazenamento. Além disso, tem-se a importância da análise microbiológica de alimentos.

Bacterioscopia e coloração de Gram: essa técnica foi desenvolvida em 1884 pelo bacteriologista Hans Christian Gram e é a coloração diferencial mais utilizada em bacteriologia. Essa coloração separa as bactérias em dois grandes grupos: as **Gram-positivas** e as **Gram-negativas**. Esse método de coloração é o de escolha para a identificação de bactérias, porém deve ser utilizado em fase de crescimento.

A observação do material corado por essa técnica se torna importante para determinar o tipo de antibiótico que deve ser utilizado em diferentes infecções. O princípio da técnica está fundamentado na diferença de composição da parede de diferentes bactérias e na capacidade destas em reterem os corantes utilizados. As bactérias Gram-positivas (Gram⁺) possuem uma parede celular mais espessa, diferentemente da parede das bactérias Gram-negativas (Gram⁻).



Exemplificando

A parede celular é quimicamente constituída de peptídeoglicana. Qual é o significado desse “achado” para a medicina? É a base para a caracterização das bactérias, importante no diagnóstico das infecções bacterianas e no mecanismo de ação e de resistência dos antibióticos.

O complexo formado pelo cristal violeta (violeta de genciana) e pelo iodo liga-se a componentes presentes nas paredes das bactérias Gram⁺, que possuem na sua composição magnésio e ácidos ribonucleicos. Essa ligação forma um complexo (Mg-RNA-CV-I) de difícil remoção. A utilização do álcool terá duas funções: dissolver lipídeos e desidratar células. O corante associado à parede das bactérias Gram⁺ e que possui alto peso molecular não consegue difundir-se de volta para o meio externo durante a lavagem com o álcool – **a célula permanece corada na cor roxa**. As bactérias Gram⁻ que possuem a parede celular mais fina ficam descoradas, porém, quando se aplica o contracorante *safranina*, as células Gram⁻ adquirem coloração **rosada**.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre técnicas microbiológicas das bactérias, no qual você aprendeu sobre técnicas de semeadura para diagnóstico microbiológico, isolamento e crescimento bacteriano, bacterioscopia e coloração de Gram, vamos agora resolver a situação-problema apresentada no “Diálogo aberto” desta seção sobre a autuação de alguns estabelecimentos comerciais pelos fiscais da vigilância sanitária de alimentos, na qual a professora solicitou que os alunos discutissem sobre as possíveis técnicas de detecção e identificação de microrganismos em alimentos, e quais ações preventivas os funcionários dos estabelecimentos multados poderiam ter realizado para evitar a contaminação dos alimentos.

Para resolver a situação-problema, vamos relembrar alguns conceitos importantes.



Atenção

Nos ambientes naturais, os microrganismos se encontram, frequentemente, sob forma de populações mistas. Para que seja possível estudar as características das espécies que compõem essas misturas, é necessário fazer seu isolamento em cultura pura. Para isso, necessitamos de um meio de cultura e de condições de incubação que facilitem o crescimento do microrganismo desejado. Após o seu crescimento, precisamos, ainda, confirmar a sua pureza, de modo a garantir que a cultura obtida contenha apenas o microrganismo de interesse.

Pensando na situação-problema, vimos a quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatórias por lei a qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos.

Para realizar uma ação preventiva à contaminação de alimentos, o principal passo seria a manipulação higiênico-sanitária correta do alimento; o segundo seria evitar as condições de crescimento bacteriano, aprendido na Seção 1.3, como ter controle de temperatura, pH, aporte de oxigênio, lembrando-se de que a maioria dos patógenos são mesófilos.

Para realizar uma pesquisa microbiológica dos alimentos comercializados por esses estabelecimentos e testar suas condições sanitárias, devemos inicialmente preparar as amostras a serem analisadas.

O primeiro passo é a homogeneização e diluição de cada amostra suspeita. As amostras serão pesadas assepticamente, 25 gramas de cada uma, e posteriormente essas frações serão colocadas em 225 mL de água peptonada a 0,1 %. Após homogeneização, obteve-se a diluição inicial 10^{-1} e, a seguir, foram preparadas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , empregando-se o mesmo diluente (observação: cada alimento tem sua norma de conduta de análise microbiológica prevista por lei, nesse caso, estamos generalizando). O segundo passo é a realização do método de profundidade ou o método de superfície, no qual, após o plaqueamento e incubação, é feita a contagem na placa em que o número de colônias é mais apropriado. O terceiro passo trata-se dos resultados em placas. No quarto passo, realiza-se a contagem de bactérias aeróbias, mesófilas, pelo método de profundidade, usando o meio ágar padrão de contagem. O quinto passo é a contagem e identificação de *Staphylococcus aureus*, realizando método de superfície e como meio o Ágar Baird Parker (BP) seletivo. O sexto passo é a pesquisa de salmonella, que consiste em

pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo do meio, plaqueamento diferencial e identificação. Se der positivo, ou seja, crescimento de UFC acima do previsto por lei, o alimento é condenado por colocar em risco a segurança alimentar da população.



Faça você mesmo

Caro aluno, até esta etapa de seus estudos, você já obteve o conhecimento dos principais meios de controle de crescimento bacteriano e quais medidas são importantes para a prevenção da contaminação dos alimentos pelos microrganismos. Dessa forma, elabore uma ação preventiva para o controle de crescimento bacteriano em um determinado estabelecimento alimentício. Para isso, é importante que você realize uma revisão das quatro seções da Unidade 1.

Boa sorte!

Avançando na prática

Pesquisa do agente causador

Descrição da situação-problema

Seis horas após o almoço no restaurante (X), um grupo de pessoas apresentou sintomas de cólicas abdominais e diarreia. De acordo com a avaliação da vigilância sanitária, o único alimento ingerido em comum foi uma carne assada de panela, que fora cozida um dia anterior à distribuição, mantida fora da refrigeração, reaquecida à temperatura de 55°C e posteriormente distribuída. Segundo o laboratório de análises, o agente causador da doença transmitida ao alimento foi a bactéria *Listeria monocitogenes*. Com base nessa situação, descreva as técnicas utilizadas para a detecção microbiológica.



Lembre-se

Método de diluições em placas: também conhecido como método das diluições seriadas, serve tanto para o isolamento quanto para a contagem de microrganismo. Esse método permite duas variantes: inoculação em superfície e inoculação em profundidade. A partir de uma amostra líquida (água, leite, urina ou outra) ou da homogeneização inicial da amostra em um diluente apropriado (solo, talco, carne ou outro), são realizadas diluições sucessivas, nas quais 1 mL de cada diluição é adicionado a 9 mL de salina, em sequência.

Resolução da situação-problema

Para realizar uma pesquisa microbiológica do alimento suspeito no restaurante (X) e testar suas condições sanitárias, devemos inicialmente preparar as amostras a serem analisadas. O primeiro passo é a homogeneização e diluição da amostra suspeita. As amostras serão pesadas assepticamente, 25 gramas cada, e posteriormente essas frações serão colocadas em 225 mL de água peptonada a 0,1 %. Após homogeneização, obteve-se a diluição inicial 10^{-1} e, a seguir, foram preparadas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , empregando-se o mesmo diluente. O segundo passo é a realização do método de profundidade ou o método de superfície, no qual, após o plaqueamento e incubação, é feita a contagem na placa em que o número de colônias é mais apropriado. O terceiro passo trata-se dos resultados em placas. No quarto passo, realiza-se a contagem de bactérias aeróbias, mesófilas, pelo método de profundidade usando o meio ágar padrão de contagem. O quinto passo é a pesquisa de *Listeria monocitogenes*, que consiste em pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo do meio, plaqueamento diferencial e identificação.



Faça você mesmo

Com base nessa situação que você acabou de resolver, reflita, descreva uma situação parecida, que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento conhecido por você, e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Considerando a coloração de Gram, indique a alternativa correta para o comportamento das Gram-positivas frente ao corante indicador:

- a) São descorados pelo álcool-acetona.
- b) Não fixam o corante de Gram.
- c) Coram-se de roxo e formam o complexo cristal-violeta-iodo.
- d) A safranina impregna a parede celular juntamente com o violeta.
- e) Não fixam nenhum corante.

2. Em relação aos meios de cultura, considere as seguintes afirmativas:

I. Os meios de cultura são combinações de nutrientes necessários ao crescimento microrgânico que contém a fonte de energia e de todos os elementos indispensáveis à vida das células.

II. Sua formulação deve levar em conta o tipo nutritivo ao qual o microrganismo pertence, considerando-se a fonte de energia, o substrato doador de elétrons e a fonte de carbono.

III. É indispensável acrescentar ao meio vitaminas, cofatores e aminoácidos, mesmo que esses compostos sejam sintetizados pelo microrganismo que se deseja cultivar.

Conclui-se que:

- a) Somente as afirmativas I e II estão corretas.
- b) Somente as afirmativas I e III estão corretas.
- c) Somente as afirmativas II e III estão corretas.
- d) Somente a afirmativa II está correta.
- e) As afirmativas I, II e III estão corretas.

3. Assinale a alternativa que trata das condições de cultivo de microrganismos:

- a) São os requisitos necessários que devem ser obedecidos para cultivar microrganismos. Para cultivá-los, não se necessita de meios de cultura e nem incubá-los em condições ambientais adequadas.
- b) São os requisitos necessários que devem ser obedecidos para cultivar microrganismos. Para cultivá-los, necessita-se de temperatura em torno de 70°C.
- c) São os requisitos necessários que devem ser obedecidos para cultivar microrganismos. Para cultivá-los, é preciso inoculá-los em meios de cultura adequados e incubá-los em condições ambientais igualmente adequadas.
- d) São os requisitos necessários que devem ser obedecidos para cultivar microrganismos. Para cultivá-los, necessita-se de temperatura em torno de 0°C.
- e) São os requisitos necessários que devem ser obedecidos para cultivar microrganismos. Para cultivá-los é preciso inoculá-los em meios de cultura, e não precisa incubá-los.

Referências

AKUTSU, Rita de Cássia Coelho de et al. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. **Revista de nutrição**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 419-427, jun. 2005.

ALCANTARA, Marcela de et al. Principais microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista brasileira de sanidade animal**, [S.l.], v. 6, n. 1, 2012.

HERNANDES, Rodrigo Tavanelli. **Agentes físicos e químicos de controle microbiano**, 2013. Disponível em: <<http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/agentes-fisicos-e-quimicos-do-controle-microbiano.pdf>>. Acesso em: 30 maio 2016.

JUNIOR, Eneo Alves da Silva. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 2014.

SILVA, M. C. D.; VILARDI, T. C. C.; TIBANA, A. Avaliação de métodos para a detecção de listeria em queijos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 150-155, maio 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000200001&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 28 abr. 2016.

SILVA, Neusely da; JUNQUEIRA, Valéria C. A.; SILVEIRA, Neliane F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

VERMELHO, A. B. et al. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

Microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos

Convite ao estudo

Por que estudar microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos na área da saúde? Esse estudo permite a você, aluno, conhecer métodos de prevenção em segurança alimentar, que são fundamentais para para profissionais da saúde. Essa é uma questão que tem mobilizado esforços de governantes do mundo inteiro, no sentido de minimizar um número crescente de doenças causadas por alimentos contaminados.

Nesta unidade de ensino, vamos enfatizar os conceitos gerais sobre microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos, abordando temas sobre a contaminação de alimentos, fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano em alimentos, avaliação da atividade microbiana e análise de alimentos. Além disso, você terá a oportunidade de aprender os principais métodos de controle de segurança de alimentos.

Competência Geral:

Conhecer a relação entre a microbiologia e a conservação dos alimentos.

Competência Técnica:

Conhecer e compreender os meios de análise de qualidade dos alimentos.

Objetivos:

- Contaminação dos alimentos.

- Principais fontes de contaminação em UAN e indústrias de alimentos e suas consequências.
- Fatores intrínsecos: atividade de água, pH, potencial de oxirredução, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais. Fatores extrínsecos: temperatura, umidade e composição atmosférica.
- Verificação da atividade antimicrobiana de alguns alimentos.
- Métodos de análise microbiológica dos alimentos.
- Meios de cultura utilizados na análise de alimentos.
- Critérios e padrões microbiológicos para a análise de alimentos.
- Normas e especificações da RDC n. 12 de janeiro de 2001.
- Microrganismos indicadores de contaminação do alimento.

Para auxiliar no desenvolvimento da competência indicada e atender aos objetivos específicos do tema em questão, a seguir será apresentada uma situação hipotética que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática.

Em um curso de graduação, a professora dividiu a classe em quatro grupos de sete alunos e solicitou um trabalho sobre os temas de microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos. Neste trabalho os grupos deverão analisar e resolver situações que se passam em Unidades de Alimentação e Nutrição (UANs). A seguinte situação foi apresentada aos alunos: no refeitório de uma empresa, responsável pela produção de 1.100 refeições por dia, foi preparado o seguinte cardápio: arroz, empadão de frango, purê de batatas, tomate e couve. Na preparação do empadão de frango, que foi cozido numa temperatura de 50°C, Rafael, funcionário responsável por desossar manualmente o frango, esqueceu de higienizar a bancada onde estava trabalhando. Em seguida, o frango ainda quente foi transferido para um vasilhame de vidro e colocado em refrigeração. No dia seguinte, o frango foi retirado às 9h da manhã para ser desfiado e às 10:30h foi colocado na caldeira junto com outros ingredientes para o cozimento. O empadão ficou pronto às 11h:30 min e foi servido de 12h até 13h30 min, o qual foi armazenado em balcão térmico na temperatura de 45°C. Por volta das 14h:30 min do mesmo dia, 300 pessoas relataram fortes dores abdominais, vômitos, diarreia e calafrios.

Cada grupo de alunos deverá analisar essa situação e discutir um

determinado aspecto do caso. Dessa forma, o primeiro grupo deverá discutir sobre as possíveis fontes de contaminações sofridas pelo alimento dentro da cozinha industrial e da UAN, quais foram os erros técnicos higiênicos-sanitários, e a forma preventiva correta de evitá-los. O segundo grupo deverá discutir sobre os obstáculos proporcionados pelos fatores extrínsecos e intrínsecos que garantem a conservação do alimento, frente ao desenvolvimento microrgânico e aos fatores que facilitam o desenvolvimento microrgânico. O terceiro grupo ficará responsável pela análise microbiológica do alimento contaminado, de modo a identificar o microrganismo em questão e aplicar a metodologia de análise microbiológica. Por fim, o quarto grupo será responsável pela aplicação dos critérios dos padrões microbiológicos, e determinação dos microrganismos indicadores de contaminação.

Analizando essa situação você consegue imaginar quantas questões relacionadas à microbiologia de alimentos e análises microbiológicas de alimentos estão envolvidas nesse cenário? Sendo assim, em cada seção desta unidade, você aprenderá os principais temas da saúde que o levarão a resolver e compreender cada questionamento da situação. Então vamos começar?

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Seção 2.1

Contaminação dos alimentos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à primeira seção da segunda unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos. Aprenderá nesta seção sobre a contaminação de alimentos, as principais fontes de contaminação em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) e indústria de alimentos e suas consequências. Além disso, aprenderá técnicas higiênico-sanitárias de manipulação de alimentos para garantir a segurança de alimentos.

Agora vamos relembra a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” que é analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O primeiro grupo deverá discutir sobre as possíveis fontes de contaminações sofridas pelo alimento dentro da cozinha industrial da UAN, e responder a tais questões: será que as técnicas de manipulação de alimentos foram corretas? Será que as temperaturas de cocção, refrigeração e armazenamento do alimento foram corretas? Como podemos prevenir possíveis casos de contaminação para garantir a segurança de alimentos?

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a conduta ideal dos manipuladores de alimentos serão apresentadas de forma contextualizada no item “Não pode faltar” quais são as regras e normas de condutas, inclusive os direitos e obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir de forma ética e eficaz com o objetivo de proporcionar a integridade e bem-estar físico da população.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar microbiologia de alimentos e análises microbiológicas dos alimentos? Como pôde perceber na situação de realidade apresentada no “Convite ao estudo” que, durante nossos trabalhos, no dia a dia, lidamos constantemente com as mais diversas situações de relacionamento com as pessoas e com o local de trabalho. E em se tratando de alimentação, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que as enfermidades causadas por alimentos contaminados constituem um dos problemas sanitários mais difundidos no mundo de hoje. A garantia de alimentos seguros traz benefícios não só à população que os consome, mas também gera maiores divisas ao país, por meio do aumento da produtividade, competitividade e diminuição de gastos com tratamento médicos de doenças de origem alimentar.

A OMS indica 10 “Regras de ouro” para a preparação higiênica dos alimentos:

1. Escolher alimentos tratados de forma higiênica – ao fazer as compras, deve-se saber que os alimentos não são tratados apenas para se conservarem melhor, mas também para que sejam mais seguros do ponto de vista sanitário.

2. Cozinhar bem os alimentos – muitos alimentos crus estão em meios contaminados por patógenos, que podem ser eliminados por uma boa cocção. Para isso deve-se atingir a temperatura de 70°C em toda a massa do alimento durante a cocção.

3. Consumir imediatamente os alimentos cozidos – quando os alimentos esfriam a temperatura ambiente, os microrganismos iniciam a sua proliferação. Quanto mais se espera, maior é o risco. Para isso convém consumir os alimentos imediatamente após a cocção.

4. Armazenar cuidadosamente os alimentos cozidos – deve-se planejar o armazenamento em condições de calor (em torno ou acima de 60°C) ou de frio (em torno ou abaixo de 10°C). Essa forma é vital para o armazenamento de alimentos prontos por mais de 4 a 5 horas. Se o interior do alimento refrigerado permanecer quente a mais de 10°C por longo tempo, os microrganismos proliferarão e alcançarão rapidamente uma concentração capaz de causar doença.

5. Reaquecer bem os alimentos cozidos – um armazenamento correto retarda a proliferação microbiana, mas não destrói os microrganismos. Um bom aquecimento requer que todas as partes do alimento alcancem, pelo menos, uma temperatura de 70°C.

6. Evitar contato entre os alimentos crus e os cozidos – um alimento bem cozido pode contaminar-se unicamente com um mínimo contato com alimentos crus. Essa contaminação cruzada pode ser direta.

7. Lavar as mãos constantemente – deve-se lavar bem as mãos antes de iniciar a preparação de alimentos e após qualquer interrupção (principalmente, se for para trocar cestos de lixo ou ir ao banheiro).

8. Manter escrupulosamente limpas todas as superfícies da cozinha – como os alimentos se contaminam facilmente, convém manter perfeitamente limpas todas as superfícies utilizadas para prepará-los e isso também implica os panos que entram em contato com os pratos e utensílios, que devem ser trocados e fervidos todos os dias.

9. Manter os alimentos fora do alcance de insetos, roedores e outros animais – o melhor método de proteção é guardar os alimentos em recipientes bem vedados.

10. Utilizar água pura – é tão importante para preparar o alimento como para beber.



Assimile

A garantia de alimentos seguros traz benefícios não só à população que os consome, mas também gera maiores divisas ao país, por meio do aumento da produtividade, competitividade e diminuição de gastos com tratamentos médicos de doenças de origem alimentar.

Entende-se que **contaminação de alimentos** é a presença de qualquer objeto, substância ou organismo indesejável nos alimentos. Vale ressaltar que a contaminação de um alimento é passível de ocorrer em qualquer etapa de sua cadeia produtiva. Sendo assim, a contaminação de alimentos pode ser classificada em três tipos: contaminação biológica, contaminação química e contaminação física.

Contaminação biológica – é a presença de microrganismos indesejáveis como bactérias, fungos, vírus ou parasitas (vermes) nos alimentos. Os microrganismos não são visíveis a olho nu, e são largamente distribuídos e representam os principais contaminantes biológicos dos alimentos. Para sobreviver e se multiplicar, eles precisam de:

- Temperatura amenas – os microrganismos prejudiciais à saúde preferem temperaturas próximas à do nosso corpo (a maioria dos patógenos é mesófila).
- Água e umidade – os alimentos perecíveis apresentam um aporte de água e umidade favoráveis à proliferação de microrganismos patógenos.
- Nutrientes – a matriz alimentícia é fonte de nutrientes para o desenvolvimento dos microrganismos.

Os locais mais frequentes para encontrar tais microrganismos são no solo, na água, nos animais domésticos, em insetos e pragas, nas pessoas (principalmente nas mãos, unhas, no cabelo, na garganta, em fermentos) e no lixo.

Contaminação química – ocorre quando os alimentos são contaminados por produtos químicos, certamente quando são usados de forma indevida em alguma etapa da cadeia produtiva. Existem quatro tipos de contaminantes químicos:

- Agrotóxicos, adubação e praguicidas – podem causar intoxicações sérias aos trabalhadores rurais e também aos consumidores. Os resíduos dos agrotóxicos podem permanecer nos alimentos mesmo depois de lavados e preparados, e provocar inúmeras doenças que demoram para se manifestar.
- Medicamentos – são utilizados para prevenir ou tratar doenças em animais fornecedores de carne, leite e ovos. Os resíduos dessas substâncias encontrados nas carnes consumidas podem levar a vários problemas de saúde.
- Aditivos alimentares – são adicionados intencionalmente aos alimentos para melhorar suas características sensoriais e aumentar sua vida de prateleira, mas quando utilizados em quantidades acima dos limites permitidos causam efeitos adversos à saúde.
- Produtos de limpeza – contaminam os alimentos quando são armazenados no mesmo local ou quando não são observadas as instruções de uso correto nos seus rótulos.
- Metais tóxicos – mercúrio, cádmio, alumínio e chumbo. Entramos em contato de forma involuntária com esses metais através do ar (poluição, fumaça de cigarros, spray, tintas de parede), de produtos (cosméticos, maquiagens, tinturas, fertilizantes, agrotóxicos, embalagens, utensílios de cozinha), da água (lençol freático contaminado por descarte de pilhas, baterias em aterro sanitário e resíduo industrial).

Contaminação física – caracteriza-se pela presença de materiais estranhos nos alimentos como pedaços de metal, madeira, pregos, vidros, pedras, ossos, areia, pedaços de borracha, pedaços de plástico. Geralmente, esse tipo de contaminação provém do próprio equipamento que processa o alimento, ou pode ser colocado intencionalmente em caso de fraude por adulteração.



Pesquise mais

Neste link você verá uma revisão sobre segurança alimentar e alimentos contaminados por motivos biológicos, químicos e físicos e os métodos de prevenção. Disponível em: <www.revista-fi.com/materias/54.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2016.

E para conhecer mais sobre boas práticas de manipulação de alimentos em UANs, acesse <http://www.e-publicacoes.uerj.br/ojs/index.php/demetra/article/view/16721#.Vx_0f_lJnIU>. Acesso em: 26 abr. 2016.

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são todas as ocorrências clínicas consequentes à ingestão de alimentos que possam estar contaminados com microrganismos patogênicos (infecciosos, toxinogênicos ou infestantes), substâncias químicas ou restos físicos. As causas e consequências da DTAs serão estudadas na Unidade 3 do livro didático (LD).



Exemplificando

Isso ocorre porque a inocuidade de um alimento se destaca entre os demais atributos de qualidade pelo impacto ocasionado em termos de saúde pública, tem enfoque qualitativo e se refere à proteção e à preservação da vida e da saúde humana contra os riscos representados por possíveis perigos nos alimentos.

O controle de qualidade nos serviços de alimentação é muito importante e abrangente, havendo necessidade de definir as situações básicas que envolvem a preparação de alimentos, como as técnicas de preparo que definem as necessidades culinárias dos vários tipos de alimentos, as regras e técnicas adequadas para preparar alimentos em condições de segurança higiênico-sanitárias e as instruções de ensino teórico e prático para desenvolver as técnicas operacionais com manipulação e processamento seguro para evitar as DTAs.

Para evitar as principais fontes de contaminação de alimentos em UANs e indústrias alimentícias é necessário implantar o controle de qualidade nos locais onde se preparam e servem alimentos prontos para o consumo, tais como:

- Implementar e ter o manual de técnicas operacionais ou boas práticas – esse material define as operações importantes para o preparo de cada tipo de alimento e contém todas as informações relativas aos tipos de preparações envolvendo a cadeia alimentar.

- Implementar e ter o manual de boas prática integrado com os princípios do sistema APPCC (Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) – esse material define as informações sobre todas as situações chamadas pontos críticos, nas quais os perigos (biológicos, químicos e físicos) estariam presentes nos alimentos. A determinação dos pontos críticos de controle enfatiza todas as situações de risco às quais os alimentos estão expostos durante a preparação (pré-preparo, preparo final e distribuição). Os pontos críticos são fundamentados nos **critérios de segurança** em relação ao tempo, temperatura, pH, atividade de água, higiene ambiental, pessoal e dos alimentos.
- Treinamento e capacitação – envolve atividades nas quais devem-se instruir os profissionais que trabalham no preparo de alimentos (manipulação e processamento). A instrução teórica deve ser seguida do treinamento prático, e os critérios de segurança higiênico-sanitários devem ser rigidamente obedecidos.



Reflita

Os princípios gerais de higiene alimentar se aplicam a toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até o consumidor final, estabelecendo as condições higiênicas necessárias para produzir alimentos inócuos e saudáveis. A partir do texto, você, aluno, acha que a afirmativa está correta?

Todos os cuidados relacionados às questões de segurança de alimentos são preventivos, desse modo existem regras utilizadas para prevenir contaminações cruzadas em alimentos. Prevenir é evitar que os microrganismos contaminem alimentos – por meio do homem, do ambiente, adquirindo matérias-primas de boa procedência; evitar que os microrganismos sobrevivam nos alimentos – por meio da cocção e do reaquecimento corretos; evitar que ocorra recontaminação dos alimentos – por meio da manipulação pós-cocção e do armazenamento incorreto; evitar que os microrganismos se multipliquem nos alimentos – evitar deixar os alimentos mais que 30 minutos entre 10°C e 55°C, na temperatura ambiente, na refrigeração acima de 4°C e na espera ou distribuição abaixo de 60°C.

Nesta seção, você aprendeu os princípios sobre as principais fontes de contaminação em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) e indústria de alimentos e suas consequências. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre a contaminação de alimentos, em que você aprendeu sobre principais fontes de contaminação em Unidades de Alimentação e Nutrição (UAN) e indústria de alimentos e suas consequências, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O primeiro grupo deverá discutir sobre as possíveis fontes de contaminações sofridas pelo alimento dentro da cozinha industrial da UAN.



Atenção

Os resultados apurados pela OMS mostram que só um pequeno conjunto de fatores levam à alta proporção de enfermidades transmitidas pelos alimentos. Os erros mais frequentes são: 1. Preparação do alimento com demasiada antecedência ao seu consumo; 2. Os alimentos são preparados e são deixados por muito tempo numa temperatura que permite a proliferação de microrganismos; 3. Cocção insuficiente; 4. A contaminação cruzada; 5. As pessoas infectadas, ou colonizadas, que manipulam alimentos.

Pensando na sequência de ações expostas na situação-problema, foi a quebra de conduta em relação às técnicas higiênico-sanitárias que resultou na proliferação de microrganismos patógenos, e por conseguinte, na contaminação biológica do alimento. Como primeiro risco de contaminação temos a cocção insuficiente das carcaças de frango na temperatura de 50°C, quando a temperatura deveria pelo menos atingir 70°C em toda a massa do alimento, e se a carne próxima ao osso estivesse crua, esta deveria retornar ao forno até que esteja bem assada. O segundo risco e de muita importância foi a falta de higienização da bancada de trabalho, o que contribui para a contaminação cruzada do alimento: se ela fosse higienizada de forma adequada, certamente seriam reduzidas as chances de alimento contaminado. O terceiro risco foi o processo manual de desossar e desfilar a carne, que depende da higiene do manipulador e da higiene do ambiente e utensílios utilizados para tal. O quarto risco foi o tempo em que a carne ficou à temperatura ambiente após ser retirada da refrigeração. Esse tempo foi de 1 hora e 30 minutos, fator responsável pela multiplicação de patógenos, o tempo correto que evitaria a proliferação de patógenos deveria ser inferior a 30 minutos. O quinto risco foi o armazenamento em balcão térmico a 45°C, temperatura propícia à multiplicação da flora mesófila patogênica, quando o correto seria a temperatura de armazenamento no balcão térmico acima dos 60°C. Essa sucessão de erros técnicos favoreceu a contaminação biológica do alimento, prejudicou a segurança alimentar e colocou em risco a saúde dos comensais.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Contaminação na UAN do hospital

Descrição da situação-problema

Uma UAN de um hospital privado, responsável pela produção de 1.000 refeições por dia, preparou o seguinte cardápio: arroz, torta de frango, purê de batatas, tomate, alface e repolho. Para a preparação da torta de frango, foram cozidas carcaças de peito de frango até atingirem a temperatura de 60°C, as quais foram desossadas manualmente por um funcionário e colocadas em refrigeração a 6°C. No dia seguinte, a carne foi retirada da refrigeração às 7 h da manhã para ser desfiada e às 7:15 h foi colocada em caldeira para o cozimento. A carne ficou pronta às 10 h e foi servida de 12 h até 13:30 h, sendo armazenada em balcão térmico à temperatura de 55°C. A partir das 14:30 h do mesmo dia, começaram a chegar pessoas no departamento médico do hospital relatando fortes dores abdominais, vômitos, diarreia e calafrios, totalizando 300 acometimentos. Foi notificado que o responsável por desossar e desfiar a carne tinha cortes pequenos infeccionados nas mãos. Mediante esses fatos, explique quais foram os motivos que levaram a tais acometimentos? Qual tipo de contaminação em questão? Quais seriam os métodos de prevenção?



Lembre-se

O controle de qualidade nos serviços de alimentação é muito importante e abrangente, há a necessidade de definir as situações básicas que envolvem a preparação de alimentos, como as técnicas de preparo que definem as necessidades culinárias dos vários tipos de alimentos, as regras e técnicas adequadas para preparar alimentos em condições de segurança higiênico-sanitárias e as instruções de ensino teórico e prático para desenvolver as técnicas operacionais com manipulação e processamento seguro para evitar as DTAs.

Resolução da situação-problema

Mais um caso clássico de quebra de conduta em relação às técnicas higiênico-sanitárias, que resultaram na proliferação de microrganismos patógenos, e por conseguinte, na contaminação biológica do alimento. O primeiro risco foi a contaminação do alimento por meio do homem, pois foi relatado que o funcionário tinha cortes infeccionados nas mãos, quando o correto seria pedir a outro funcionário

para fazer o trabalho. Como segundo risco de contaminação temos a cocção insuficiente das carcaças de frango na temperatura de 60°C, quando a temperatura deveria pelo menos atingir 70°C em toda a massa do alimento, e se a carne próxima ao osso estivesse crua, esta deveria retornar ao forno até que estivesse bem assada. O terceiro risco foi a temperatura incorreta de refrigeração em que o alimento foi armazenado, de 6°C, quando o correto seria a temperatura inferior a 4°C. O quarto risco foi o armazenamento em balcão térmico a 55°C, temperatura propícia à multiplicação da flora mesófila patogênica, quando o correto seria a temperatura de armazenamento no balcão térmico acima dos 60°C. Essa sucessão de erros técnicos favoreceu a contaminação biológica do alimento, prejudicou a segurança de alimentos e colocou em risco a saúde dos comensais.



Faça você mesmo

Com base nessa situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Contaminação química – ocorre quando os alimentos são contaminados por produtos químicos, certamente quando são usados de forma indevida em alguma etapa da cadeia produtiva. Assinale a alternativa que só contém contaminantes químicos:

- a) Detergente, desinfetante, areia.
- b) Desinfetante, mercúrio, agrotóxico.
- c) Mercúrio, cobalto 70, agrotóxico.
- d) Cacos de vidro, *Aspergillus niger*, *Lactobacillus casei*.
- e) *Lactobacillus casei*, detergente, areia.

2. Foi detectado, em um restaurante, um surto de infecção alimentar por *Salmonella sp* e, segundo análise, foi constatado que a transmissão dos microrganismos ocorreu por meio de utensílios utilizados por um manipulador. Essa via de transmissão de microrganismo é denominada:

- a) Indireta.
- b) Cruzada.

- c) Direta.
- d) Alternativa.
- e) Ambiental.

3. São consideradas regras para prevenir a contaminação dos alimentos. Assinale a alternativa correta:

- a) Evitar que os microrganismos contaminem alimentos por meio do homem, do meio ambiente.
- b) Evitar o uso de saneantes em hortaliças, verduras e legumes.
- c) Evitar a cocção de carnes a 70°C.
- d) Evitar lavar as mãos antes da manipulação dos alimentos.
- e) Evitar deixar os alimentos armazenados em refrigeração abaixo de 4°C.

Seção 2.2

Fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à segunda seção da segunda unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre os fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano. Aprenderá, nesta seção, a influência dos fatores intrínsecos, que são: atividade de água, pH, potencial de oxirredução,, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais; e dos fatores extrínsecos, que são: temperatura, umidade e atmosfera modificada; que refletem no desenvolvimento e no controle de crescimento microbiano.

Agora vamos relembra a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de um curso de graduação da área de saúde tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar.

O segundo grupo deverá discutir sobre os obstáculos proporcionados pelos fatores extrínsecos e intrínsecos que garantem a conservação do alimento frente ao desenvolvimento microrgânico, e também os fatores que facilitam o desenvolvimento microrgânico. Quais seriam os fatores intrínsecos e extrínsecos presentes na situação e quais os microrganismos beneficiados pelas condições? Como esses fatores previnem a contaminação microrgânica?

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a conduta ideal dos manipuladores de alimentos será apresentado, de forma contextualizada, no item “Não pode faltar”, quais são as regras e normas de condutas inclusive os direitos e obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir de forma ética e eficaz com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar físico da população.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano? Como pôde perceber na situação-realidade apresentada no “Convite ao estudo”, durante nossos trabalhos, no dia a dia, lidamos constantemente com as mais diversas situações de relacionamento com as pessoas e com o local de trabalho.

Os microrganismos que contaminam os alimentos têm a sua sobrevivência e a sua multiplicação condicionadas a certos fatores, além da existência dos substratos necessários para a sua vida. Esses fatores podem interferir tanto negativa quanto positivamente na multiplicação dos microrganismos. Compete ao profissional de cozinha conhecê-los, mantendo-se alerta aos seus processos de trabalho, evitando a contaminação que gera graves consequências e coloca em risco a segurança alimentar dos alimentos. Vamos conhecer esses fatores?

1. Fatores intrínsecos: Atividade de água (a_w), pH, potencial de oxirredução, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais.

2. Fatores extrínsecos: Temperatura, umidade relativa do meio ambiente, composição atmosférica.

Primeiramente vamos estudar os fatores intrínsecos e suas influências no controle do crescimento microbiano, e posteriormente estudaremos os fatores extrínsecos.

Fatores intrínsecos – estão relacionados com as características próprias do alimento.

Atividade Aquosa (Aa/a_w): é a quantidade de água livre presente nos alimentos, que funciona como meio reacional, pois solubiliza os nutrientes da matriz alimentícia, e favorece o metabolismo dos microrganismos. As bactérias preferem alimentos com maior teor aquoso para a sua multiplicação, já os fungos preferem alimentos mais secos. É importante ressaltar que os microrganismos não se proliferam nem se desenvolvem em alimentos desidratados (totalmente sem água), infelizmente o processo de desidratação não se aplica numa cozinha industrial. No entanto, é sabido que alimentos desidratados possuem vida de prateleira maior que aqueles que não passaram por esse processo. O valor da atividade aquosa pode variar de acordo com o alimento de 0 a 1,0 de acordo com os valores a seguir:

$Aa = P/Po$ onde, **P** = pressão parcial de vapor da água contida no alimento e **Po** = pressão de vapor da água pura. $Aa = 1$, significa água pura; $Aa = 0,999$, já existe um mínimo de nutrientes; $Aa = 0,6$ não existe mais água livre que favoreça o metabolismo das bactérias, mas certos fungos podem reproduzir-se. Os microrganismos possuem valor máximo, mínimo e ótimo de Aa para sua

multiplicação. Adição de sal, açúcar e outros solventes – reduz Aa por reduzir o valor de P.

pH (potencial Hidrogeniônico): pode ser determinado na escala de pH, demonstrando a medida de acidez ou alcalinidade de uma substância. Em nosso caso, no alimento. Geralmente, os fungos preferem ambientes mais ácidos (pH ideal é 5,5, que é o de certas frutas e hortaliças). Algumas bactérias preferem ambientes mais alcalinos, mas a maioria se desenvolve num pH quase neutro ou seja, entre 6 e 7. Por exemplo: carne, ave, peixes, leite, feijão etc. Como a maioria dos alimentos tem o pH ácido e neutro, mais uma vez as bactérias são favorecidas em seu desenvolvimento. No Quadro 2.1 temos a faixa de pH para o crescimento bacteriano.

Quadro 2.1 | Faixa de pH para o crescimento bacteriano

Grupo de microrganismo	pH de crescimento		
	pH ótimo	pH máximo	pH mínimo
Bactérias patógenas	6,5 a 7,5	9,0	4,5

Fonte: elaborado pelo autor.

A bactéria *C.botulinum* não germina num pH < 4.6 e não cresce num pH < 4.5. Microrganismos acidófilos: *Lactobacillus* e *Streptococcus*: crescem num pH 3-4; os fungos e leveduras crescem num pH 2-8.5. O efeito inibidor do pH é dependente do tipo de ácido presente no alimento, dos nutrientes da matriz alimentícia, da Aa e temperatura. O pH ácido do meio consegue desnaturar as proteínas e DNA dos microrganismos, leva à alteração das atividades enzimáticas responsáveis pelas atividades vitais da célula, e consequentemente reduz a velocidade de crescimento do microrganismo.

Potencial de oxirredução (Eh): é a facilidade com que determinado substrato ganha ou perde elétrons. Quando o elemento perde elétrons ele fica – oxidado, quando ganha elétrons fica – reduzido. Quanto mais oxidado um composto, mais positivo é o seu potencial de oxirredução, e quanto mais reduzido, mais negativo é o potencial. Em outras palavras, o potencial de oxirredução vai medir a tensão do oxigênio no alimento, e por conseguinte, determinará os tipos de microrganismos que poderão se proliferar nesse alimento. As bactérias podem ser classificadas de acordo com a tensão de oxigênio, ou seja, potencial de oxirredução (Eh) em:

Bactérias aeróbias Eh (+) – crescem na presença de oxigênio livre (*Pseudomonas*, *Moraxella* etc).

Bactérias anaeróbias Eh (-) – crescem na ausência do oxigênio livre (*Clostridium*).

Bactérias anaeróbias facultativas Eh (+ baixo) – crescem tanto na ausência como na presença de oxigênio (*Enterobactérias*).

Bactérias microaerófilas Eh (+ + baixo) – crescem em pequenas concentrações de oxigênio (em torno de 10%). Ex.: lactobacilos, estreptococos.

Os processos envolvendo anaerobiose se aplicam em produtos industrializados aos quais se pode associar mais de um tipo de controle, com acidificação, inibidores metabólicos e serve para impedir o desenvolvimento microrgânicos assim como preservar as características sensoriais desses produtos.



Reflita

A restrição de oxigênio e o aumento de outros gases, como o dióxido de carbono, óxido de etileno e ozônio, configura procedimento útil no controle de bactérias patogênicas de origem alimentar, em sua maioria aeróbias. Agora reflita sobre essa afirmativa, e pense nas bactérias anaeróbias, aneróbias facultativas e microaerófilas, elas seriam beneficiadas por essa prática?

Barreiras biológicas: são estruturas naturais de alguns alimentos que constituem excelente barreira física contra a entrada de microrganismos. Exemplos: casca de ovos, casca de frutas, casca de nozes, películas que envolvem sementes, pele dos animais.

Nutrientes: são substâncias que existem na estrutura dos alimentos e são importantes para o desenvolvimento de todos os seres vivos, principalmente, os homens e os microrganismos. São eles: açúcares, gorduras, proteínas, vitaminas, sais minerais (cálcio, fósforo, potássio, ferro etc.). Assim como nós, os microrganismos se alimentam desses nutrientes para sobreviver.

Antimicrobianos naturais: são substâncias naturais presentes ou produzidas nos alimentos, que têm a capacidade de reduzir ou até impedir a proliferação microbiana. Tais substâncias estão relacionadas com a estabilidade dos alimentos em relação aos microrganismos. Exemplo de substâncias inibidoras presentes nos alimentos: no **Leite de vaca** – contém lacteína e fatores anticólicas, além de lactoferrina, lisozima, nisina. O leite também apresenta um sistema lactoperoxidase, que, por meio da quebra de peróxidos presentes nele, libera oxigênio promovendo a oxidação de grupos SH (pontes de sulfeto) de enzimas vitais ao microrganismo. Na **clara de ovo** – encontra-se a lisozima, que é uma enzima que destrói a parede celular bacteriana, e proporciona um pH desfavorável à multiplicação. Nos vegetais encontra-se o ácido benzoico, no **cravo** encontra-se o eugenol, na **canela** encontra-se o aldeído cinâmico, nas **frutas** encontram-se taninos, polifenóis, ácidos orgânicos e óleos essenciais. Exemplos de substâncias inibidoras produzidas nos alimentos: penicilina, clavicina, ácido propiônico, ácido láctico, álcool, bacteriocinas.



Assimile

Fatores intrínsecos são relacionados com o próprio alimento, e possuem obstáculos que evitam a proliferação microorgânica. Ex.: atividade aquosa, pH, potencial de oxirredução, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais.



Pesquise mais

Neste link você verá uma revisão expositiva sobre os fatores intrínsecos e extrínsecos e como estes controlam o crescimento microorgânico. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2012/12/Fatores-extr%C3%ADnsecos-e-intr%C3%ADnsecos-dos-alimentos.pdf>>. Acesso em: 11 maio 2016. Leia também o artigo *Fatores limitantes à proliferação de microrganismo em alimentos*, indicado a seguir. HOFFMANN, Fernando Leite. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Revista Online Brasil Alimentos**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001. Disponível em: <<http://www.signuseditora.com.br/BA/pdf/09/09%20-%20Higiene.pdf>>. Acesso em: 4 maio 2016.

Fatores extrínsecos – são relacionados ao ambiente em que o alimento se encontra. E compreende:

Temperatura – a temperatura é um dos fatores ambientais de maior relevância para o crescimento microbiano. Os microrganismos podem se multiplicar num intervalo grande de temperatura. Por meio do aumento ou redução da temperatura (utilização do fogão ou da geladeira), chamados de **cadeia quente** e **cadeia fria**, respectivamente, é possível controlar a multiplicação de microrganismos. Conforme a temperatura ideal de multiplicação (Quadro 2.2) os microrganismo se classificam em:

Quadro 2.2 | Classificação do microrganismo de acordo a temperatura de crescimento

Grupo de bactérias	Temperatura (C°) de crescimento			Tipos de alimentos	Agentes deteriorantes
	Minima	Ótima	Máxima		
Termófilos	35-45	45-65	60-90	Enlatados	<i>Bacillus, Clostridium</i>
Mesófilos	5-25	25-40	40-50		Grande maioria das bactérias patógenas

(continua)

Psicrófilos	-5 a +5	10-15	15-20	Refrigerados – carnes, pescado, ovos, frangos	<i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Micrococcus</i>
Psicrotrófico	-5 a +5	25-30	30-35	Refrigerados – carnes, pescado, ovos, frangos	<i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Micrococcus</i>

Fonte: elaborado pelo autor.

Umidade relativa (UR) – é um fator de grande importância para o crescimento de bactérias. A quantidade de água contida num alimento não dá ideia de sua umidade relativa, pois esta depende da constituição molecular do alimento e do seu grau de saturação. Assim, um alimento qualquer que não tem mais capacidade de absorver água está saturado, e sua umidade relativa é de 100%. A Umidade Relativa (UR) do ambiente e a atividade de água do alimento se correlacionam. Quando o alimento se encontra em equilíbrio com a atmosfera a $UR = Aa \times 100$. Casos que acontecem:

$UR > Aa$ do alimento = o alimento absorve água do meio e aumenta Aa, o que favorece o crescimento microrgânico.

$UR < Aa$ do alimento = o alimento perde água para o meio, ou seja, murcha ou desidrata, isso implica perdas nas características sensoriais do alimento como gosto, textura, cheiro, paladar, e reduz ou anula o crescimento microrgânico.

Os diferentes microrganismos têm sua sobrevivência assegurada nas seguintes condições de umidade relativa: mofos – umidade acima de 70%, leveduras – umidade acima de 85%, bactérias – umidade acima de 90%. Sendo assim os alimentos desidratados por qualquer processo geralmente estão dentro dos limites de segurança.



Exemplificando

O aparecimento de mofos é a primeira indicação de deterioração microbiana em produtos originalmente secos, como farináceos, cereais, sementes, que foram armazenados há algum tempo. Isso indica que o alimento atingiu uma umidade relativa acima de 70% e está sujeito à deterioração.

Composição atmosférica – é a composição de gases atmosféricos que entrarão em contato com o alimento quando este for acondicionado. Essa composição pode selecionar os tipos de microrganismos que poderão se proliferar no alimento. Ex.: a indústria possui um recurso tecnológico de modificar a atmosfera em que o alimento estará acondicionado, uma vez que essas modificações podem desencadear o crescimento microrgânico e consequente alteração no alimento. “**A atmosfera modificada**” é um desses recursos, em que ocorre a substituição parcial ou total do oxigênio por outros gases como embalagens contendo combinações entre oxigênio, nitrogênio e gás carbônico; embalagens a vácuo, e atmosferas contendo gás carbônico, que são utilizadas para aumentar a vida de prateleira de frutas e de carnes vermelhas.



Assimile

Fatores extrínsecos são os fatores relacionados ao meio ambiente em que o alimento será armazenado, e compreendem a temperatura, umidade relativa e composição atmosférica.

Nesta seção, você aprendeu sobre a influência dos fatores intrínsecos e extrínsecos no controle microbiano. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre os fatores intrínsecos e extrínsecos do controle de crescimento microbiano, quando você aprendeu sobre a influência dos fatores intrínsecos, que são: atividade de água, pH, potencial de oxirredução, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais; e dos fatores extrínsecos, que são: temperatura, umidade e atmosfera modificada; refletem no desenvolvimento e no controle de crescimento microbiano. Agora vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção do “Diálogo Aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O segundo grupo, deverá discutir sobre os obstáculos proporcionados pelos fatores extrínsecos e intrínsecos que garantem a conservação do alimento, frente ao desenvolvimento microrgânico, e também os fatores que facilitam o desenvolvimento microrgânico. Quais são os fatores intrínsecos e extrínsecos presentes na situação e quais são os microrganismos beneficiados pelas condições? Como esses fatores previnem a contaminação microrgânica?



Atenção

Já se perguntou por que a cozinha é o ambiente ideal para o desenvolvimento das bactérias e fungos? Simples, a cozinha possui todos os fatores que influem no desenvolvimento de bactérias e fungos: água, pH neutro ou ligeiramente ácido, oxigênio, nutrientes e temperatura próxima de 35°C. Por isso, se não houver todo o controle necessário, esses fatores associados à falta de higiene e de cuidados transformarão a cozinha numa verdadeira habitação de microrganismos.

Pensando na situação-problema, foi a quebra de conduta em relação às técnicas higiênico-sanitárias que resultou na proliferação de microrganismos patógenos, e por conseguinte, a contaminação biológica do alimento, além disso, alguns fatores intrínsecos e extrínsecos beneficiaram a proliferação microrgânica, tais como: cozimento do empadão de frango a 50°C, favoreceu a proliferação dos patógenos mesófilos e termófilos; temos que levar em conta o pH de uma cozinha industrial, que tende a ser neutro, facilitando a proliferação de patógenos; o ar atmosférico que propicia a proliferação de aeróbios; os nutrientes dos alimentos oferecidos no cardápio como fonte de substrato microrgânico; a alta atividade aquosa desses alimentos do cardápio que favorece a proliferação de bactérias; a temperatura de cozimento do balcão térmico de 45°C, que é ótima para a proliferação da flora mesófila patogênica; a umidade relativa do ambiente de uma cozinha industrial é elevada e favorece a proliferação microrgânica pois altera a Aa do alimento; todos esses fatores associados com a falta de higiene da bancada de trabalho resultaram na contaminação biológica do alimento. Fatores intrínsecos presentes: Aa, pH, nutrientes, potencial de oxirredução dos alimentos. Fatores extrínsecos presentes: temperatura, umidade relativa e composição da atmosfera da cozinha. A interação dos fatores intrínsecos e extrínsecos em determinadas situações possuem efeitos sinérgicos entre si, reduzindo a capacidade de sobrevivência e de crescimento dos microrganismos nos alimentos, e são ditos como obstáculos. Se todos os fatores supracitados atuarem de forma sinérgica no crescimento microbiano, esse é inibido e o alimento se torna estável e seguro.

Avançando na prática

Desafiamos você, aluno, a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Salga da carne

Descrição da situação-problema

Ao receber a carne do fornecedor, Rafael a processou em condições higiênicas apropriadas, e utilizou solução de cloreto de sódio na concentração de 5% para o processo de salga. Esse processo de conservação resulta na desidratação da carne, pois modifica a pressão osmótica desta, e impede o crescimento microbiano, principalmente das bactérias anaeróbias. Depois desse procedimento, Rafael armazenou a peça de carne salgada à temperatura de 38°C, e a vida útil da carne se prolongou. Mediante essa situação, discuta os obstáculos proporcionados pelos fatores extrínsecos e intrínsecos que garantiram a conservação do alimento frente ao desenvolvimento microrgânico, e o tipo de ação desenvolvida por eles.



Lembre-se

Fatores intrínsecos são relacionados com o próprio alimento e possuem obstáculos que evitam a proliferação microrgânica. Ex.: atividade aquosa, pH, potencial de oxirredução, barreiras biológicas, nutrientes e antimicrobianos naturais. Fatores extrínsecos são os fatores relacionados ao meio ambiente em que o alimento será armazenado, e compreendem a temperatura, umidade relativa e composição atmosférica.

Resolução da situação-problema

Nesse caso foi realizada a prática da salga como processo de conservação do alimento. A carne é considerada um alimento de alto valor nutritivo, logo possui uma oferta grande de nutrientes disponíveis como substratos à proliferação microrgânica. Mesmo assim, esses nutrientes não ficarão disponíveis, pois a Aa do alimento foi reduzida pela prática da salga, o que inviabilizou esses nutrientes e o meio reacional deles, pois os microrganismos precisam do meio aquoso para realizar suas funções metabólicas. A salga também interfere na quantidade de oxigênio circulante no interior da peça de carne, desfavorecendo a proliferação de anaeróbios. A temperatura de armazenamento 38°C, é favorável para a proliferação da flora mesófila patógena, no entanto, esta não se desenvolveu, pois não havia mecanismo para tal, ou seja, não havia meio reacional para a multiplicação. Por isso houve a preservação do alimento. Fatores intrínsecos envolvidos: Aa, potencial de oxirredução, nutrientes; fatores intrínsecos: temperatura. Ocorreu uma ação sinérgica entre os fatores resultando na segurança alimentar do alimento.

**Faça você mesmo**

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Fatores intrínsecos estão relacionados com as características próprias do alimento, e podem controlar o desenvolvimento microrgânico. Assinale a alternativa em que um fator intrínseco controle o desenvolvimento microrgânico:

- a) Alimento em embalagem a vácuo.
- b) Alimento acondicionado à temperatura de 60°C.
- c) Alimento em atmosfera de nitrogênio.
- d) Alimento em conserva ácida, tipo pickles.
- e) Alimento em atmosfera com oxigênio.

2. O maior tempo de vida útil de carnes salgadas, processadas em condições higiênicas apropriadas e mantidas à temperatura de 38°C, justifica-se pela desidratação do produto. Assinale a alternativa correta referente ao tipo de fator em questão:

- a) Fator intrínseco, nutrientes.
- b) Fator extrínseco, atividade aquosa.
- c) Fator intrínseco, pH.
- d) Fator extrínseco, temperatura.
- e) Fator intrínseco, atividade aquosa.

3. Cereais e leguminosas são produtos que têm reduzida atividade de água e, por isso, são considerados alimentos semiperecíveis. Assim, a umidade relativa e a temperatura ambiente são fatores preponderantes para sua conservação, pois podem elevar a A_w do alimento e colocar em risco sua segurança alimentar. A umidade relativa e temperatura ambiente configuram que tipo de fator? Assinale a alternativa correta:

- a) Fator intrínseco e fator extrínseco, respectivamente.

- b) Fator extrínseco e fator extrínseco, respectivamente.
- c) Fator extrínseco e fator intrínseco, respectivamente.
- d) Fator intrínseco e fator intrínseco, respectivamente.
- e) Fator intrínseco e fator externo, respectivamente.

Seção 2.3

Avaliação da atividade microbiana

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à terceira seção da segunda unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre avaliação da atividade microbiana. Aprenderá, nesta seção, sobre a verificação da atividade antimicrobiana de alguns alimentos, sobre os métodos de análise microbiológica dos alimentos e sobre os principais meios de cultura utilizados na análise de alimentos.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto de intoxicação alimentar. O terceiro grupo ficará responsável pela análise microbiológica do alimento contaminado, de modo a identificar o microrganismo em questão e aplicar a metodologia de análise microbiológica no alimento.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre o método de análise microbiológica de alimentos será apresentado de forma contextualizada, no item “Não pode faltar”, quais são os métodos mais importantes em análise microbiológica de alimentos e normas de condutas inclusive as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar físico da população.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar avaliação da atividade microbiana? Como pôde perceber na situação de realidade apresentada no “Convite ao estudo”, durante nossos trabalhos, no dia a dia, lidamos constantemente com as mais diversas situações de relacionamento com as pessoas e com o local de trabalho. Nos alimentos podem surgir substâncias de várias procedências, que retardam, inibem ou impedem o crescimento microorgânico. Essas substâncias podem agir sobre os microrganismos em geral, ou especificamente em determinados germes.

Como propriedades antimicrobianas, encontram-se no leite as lacteninas e o fator anticoliforme; na clara do ovo a lisozima, no cravo o eugenol; na canela o ácido cinâmico; na amora o ácido benzoico. No queijo temos o ácido propiônico, formado por propionibactérias, que provocam a inibição de fungos; na etapa da cura do queijo, os clostrídios que, fermentando os lactatos, produzem gás, são inibidos pela nisina, elaborada por algumas variedades de *Streptococcus lactis*. Existem antibióticos que são produtos de metabolismos resultantes de bactérias, de fungos e de leveduras, que são capazes não só de inibir os representantes de sua própria espécie, como também sustar o crescimento de outros microrganismos. Produtos tóxicos como o furfural e o hidroximetilfurfural são formados pela ação do calor em compostos com elevada concentração de açúcar, tais compostos são inibidores de bactérias fermentativas; o aquecimento de lipídeos provoca a formação de elementos inibidores de microrganismos, como radicais peróxidos e hidroperóxidos, os quais são resultantes da aceleração dos processos de auto-oxidação da gordura. A atividade microbiana, nos alimentos, pode ser controlada em duas áreas distintas: fatores intrínsecos e fatores extrínsecos, vistos na seção anterior.

Mas como a atividade microbiana pode ser avaliada no alimento? Para responder a essa pergunta temos que conhecer as técnicas básicas de detecção da presença ou ausência de microrganismos nos alimentos. As etapas da análise microbiológica nos alimentos compreendem 1. Amostragem; 2. Preparação da amostra; 3. Contagem de microrganismo; 4. Isolamento e identificação de microrganismos; 5. Testes bioquímicos. Vamos agora estudar os pontos mais importantes de cada uma.

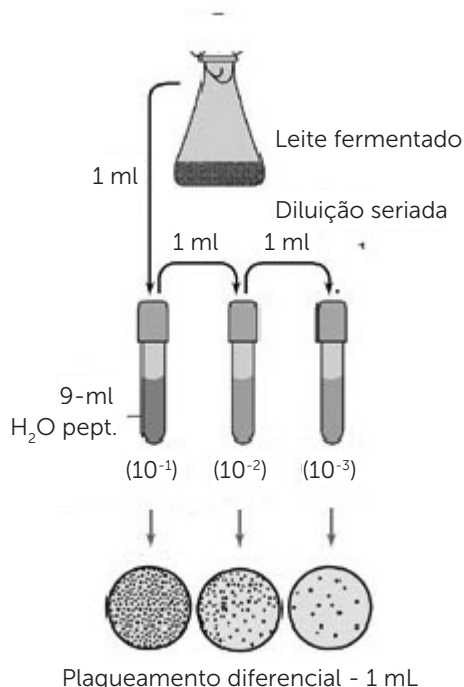
1. Amostragem: em caso de alimentos envolvidos em doenças de origem alimentar deve-se coletar e analisar amostras de todos os alimentos suspeitos, o mais rapidamente possível. Se não houver sobras das refeições suspeitas, pode-se tentar uma das seguintes alternativas: coletar amostras de refeições similares, preparadas posteriormente sob as mesmas condições, coletar amostras dos ingredientes e matéria-prima utilizadas na preparação das refeições suspeitas e coletar os vasilhames em que as refeições suspeitas se encontravam acondicionadas. Deve-se evitar a contaminação com outros alimentos. Deve-se ter cuidado no transporte dessa amostra como alimentos perecíveis, estes devem ser transportados na temperatura

de 0° a 4°C, já os alimentos congelados devem ser transportados em temperaturas de 18°C negativos, em caixas de isopor com gelo seco, e só devem ser retirados para análise, com intervalo máximo de 24 horas entre a coleta e a análise.

2. Preparação da amostra: envolve três etapas, que são a homogeneização do conteúdo e retirada da unidade analítica, a preparação da primeira diluição da unidade analítica e a preparação de diluições decimais seriadas, para inoculação nos meios de cultura. Antes de iniciar os procedimentos, a ISO 7218 (1996) recomenda que sejam observados os seguintes cuidados para garantir que as atividades sejam conduzidas sob condições assépticas. Os ensaios gerais de quantificação compreendem contagem total de aeróbios mesófilos ou psicrotróficos, bolores, leveduras, bactérias lácticas, enterococos, enterobactérias, coliformes totais, coliformes fecais, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus* e *C. perfringens*. Esses ensaios são feitos com a mesma **unidade analítica**, de 25 gramas ou mililitros da amostra. Antes da retirada das unidades analíticas, o conteúdo da amostra deve ser bem

homogeneizado, para garantir que a porção removida seja representativa de todo o material. **A diluição inicial** recomendada para a maioria das amostras é de 1:10 ou (10^{-1}), adicionando-se *m* gramas ou mililitros da amostra para 9x *m* mililitros do diluente. Exemplo: para 25 g de amostra, adicionar 9x 25 mL de diluente (225 mL). **A diluição decimal seriada da amostra** é obtida ao se transferir assepticamente 1 mL da primeira diluição (10^{-1}) para 9 mL de diluente, assim obtêm-se a diluição 10^{-2} . Para obter as diluições subsequentes basta proceder de maneira similar transferindo 1 mL da diluição anterior para 9 mL de diluente, tal qual é representado na Figura 2.1.

Figura 2.1 | Diluição decimal seriada de uma amostra de leite fermentado



3. Contagem de microrganismos: pode ser realizada por métodos diretos, que são os de contagem em placa, entre eles temos: **Método de**

filtração e **Método do número mais provável (NMP)**. Como métodos indiretos, temos: **Medida do peso seco** e **Medida de turbidez ou turbidimetria**. Esses métodos podem ser visualizados na Unidade 1 da Seção 1.4 do livro didático.

Fonte: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAfQOYAH/contagem-total-microrganismos-no-leite-fermentado>>. Acesso em: 16 maio 2016.



Refleta

A contagem de coliformes termotolerantes e a pesquisa da presença de salmonella visa à segurança dos alimentos e tem sido utilizada para avaliar as condições higiênico-sanitárias destes. Os coliformes termotolerantes constituem um grupo de enterobactérias capazes de fermentar a lactose a 45°C com produção de gás e ácido. Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e a possibilidade de microrganismos patógenos.

4. Isolamento e identificação de microrganismos: o objetivo dessa etapa é confirmar a identidade da cultura isolada, por meio de testes que identificam as características típicas do microrganismo. As características mais usadas são as morfológicas, as bioquímicas e as sorológicas. As características morfológicas incluem a forma da célula (cocos, bastonetes retos, bastonetes curvos, helicoidais), o arranjo das células (isoladas, em pares, em tétrades, em cadeias, em cachos, em filamentos, a coloração de Gram, a motilidade e a formação de esporos. O método de **coloração de Gram** se baseia na diferença de composição da parede bacteriana e a capacidade dessa parede de reter os corantes utilizados. Na ordem, core o esfregaço com o cristal violeta por um minuto, depois remova o corante com água destilada, em seguida coloque a solução de lugol sobre o esfregaço durante um minuto. Depois remova essa solução com água destilada. Lave o esfregaço com etanol 95% até que o etanol que escorre pela lâmina fique transparente, em seguida lave com água destilada. Adicione safranina durante 45 segundos, e a remova com água destilada. Por fim, seque com papel de filtro.



Assimile

Mordente é uma substância que forma um complexo insolúvel quando se liga ao corante primário. No caso da coloração de Gram, este seria o Lugol (solução de iodo)

Coloração de Ziehl-Neelsen – é o método de escolha para a identificação de bactérias do gênero *Mycobacterium*. Essa coloração se baseia no fato das micobactérias possuírem uma espessa camada de lipídios ácido micólico (ácidos graxos inseridos na parede celular) que evita a penetração de diversos corantes. Por outro lado, quando o corante atinge o citoplasma da célula, ele não pode ser removido com o uso do agente descolorante (mistura álcool – ácido).

Coloração de esporos (técnica de Schaeffer-Fulton) – baseia-se na coloração

dos esporos, que não se coram facilmente, e os métodos de coloração normalmente utilizam o calor como forma de facilitar a penetração do corante. A identificação dos esporos é muito importante para a indústria alimentícia, que utiliza o calor como forma de esterilização. As bactérias anaeróbicas dos gêneros *Clostridium* e *Desulfotomaculum* e aeróbicas do gênero *Bacillus* desenvolvem formas resistentes, chamadas de esporos (endósporos) que se formam no interior da célula vegetativa, e que são liberados após o seu rompimento. Uma das características dos esporos é a resistência a altas temperaturas (resiste à fervura por duas horas), congelamento, radiação, dessecação e agentes químicos. Procedimentos para os métodos: cobrir o esfregaço com solução de verde malaquita 5% aquosa e corar a quente durante cinco minutos. Para aquecer a solução de verde de malaquita, segurar a lâmina sobre um banho ou frasco com água sob fervura. Após o tempo de contato recomendado, lavar em água corrente e cobrir com solução de safranina 0,5% aquosa por 30 segundos. Lavar em água corrente e secar com lenço de papel ou papel de filtro (sem esfregar, apenas tocando o esfregaço com o papel). Observar ao microscópio óptico com objetiva de imersão. Os esporos vão ficar corados de verde e as células vegetativas de vermelho.



Pesquise mais

Leia o artigo *Análise microbiológica de água e alimentos*, para complementar seus conhecimentos. Disponível em: <<http://www.unioeste.br/cursos/cascavel/posmicrobiologia/aulas/especimetodologiamicro.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2016. Leia também o artigo *Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil*. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/1322/911>>. Acesso em: 16 maio 2016.

5. Testes bioquímicos: servem para executar e interpretar os resultados das transformações metabólicas ocorridas em algumas provas bioquímicas empregadas para identificação de bactérias. Ocorre a verificação das transformações químicas, que ocorrem num determinado substrato, pela ação das enzimas de um dado microrganismo. As principais e mais utilizadas provas bioquímicas são: produção de catalase, prova da citocromo-oxidase, utilização do citrato como única fonte de carbono, prova da produção de uréase, prova da produção de indol, prova da produção de gás sulfídrico ou sulfeto de hidrogênio, prova da fermentação de carboidratos, prova do vermelho de metila (vm), prova de voges-proskauer (vp), redução de nitratos, prova da motilidade.

Os meios de cultura utilizados na análise de alimentos consistem em um

material nutritivo, preparado em laboratório, que se destina ao cultivo artificial dos microrganismos, e a fornecer os nutrientes indispensáveis ao seu crescimento. Podem ser líquido, sólido ou semissólido. Os meios podem ser sintéticos, complexos, seletivos e diferenciais. Para mais detalhes sobre os meios de cultura, retorne para a Unidade 1, Seção 1.4 do livro didático.



Pesquise mais

No link a seguir, você conhecerá os meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/microbiologia/mod_4_2004.pdf>. Acesso em: 17 maio 2016. E neste link você conhecerá mais sobre o preparo de materiais em microbiologia, meios de cultura usados no laboratório, técnicas de semeadura e colorações. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/microbiologia/files/2012/11/Meios-de-cultura-usados-no-laborat%C3%B3rio-e-colora%C3%A7%C3%B5es.pdf>>. Acesso em: 17 maio 2016.



Exemplificando

Em amostras representativas de queijo do tipo minas, submetidas a análises microbiológicas, a presença de *Salmonella sp*/25 g com 10^3 e de *L. monocytogenes*/25 g a 10^2 estará fora dos índices tolerados para queijos. Nessa análise foram realizados um pré-enriquecimento com água peptonada 1%, em seguida um enriquecimento seletivo com caldo tetrationato, plaqueamento diferencial com incubação a 35-37°C, por 24 horas, e as provas bioquímicas de identificação.

Nesta seção, você aprendeu sobre a avaliação da atividade microbiana, as substâncias antimicrobianas presente nos alimentos, assim como os métodos de análise microbiológica em alimentos e os principais meios de cultura usados. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre a avaliação da atividade microbiana, em que você aprendeu sobre a verificação da atividade antimicrobiana de alguns alimentos, sobre os métodos de análise microbiológica dos alimentos e sobre os principais meios de

cultura utilizados na análise de alimentos, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo Aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O terceiro grupo ficou responsável pela análise microbiológica do alimento contaminado, de modo a identificar o microrganismo em questão e aplicar a metodologia de análise microbiológica.



Atenção

A contagem de coliformes termotolerantes e a pesquisa da presença de salmonella visa à segurança dos alimentos, e tem sido utilizada para avaliar suas condições higiênico-sanitárias. Os coliformes termotolerantes constituem um grupo de enterobactérias capazes de fermentar a lactose a 45 °C com produção de gás e ácido. Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e a possibilidade de microrganismos patógenos.

Pensando na situação-problema, foi a quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatória por lei para qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos. Geralmente, no controle de qualidade em carcaças de frango é realizada a análise de *Salmonella spp.*, coliformes fecais e coliformes totais, os quais comprovam contaminação pós-sanitização ou má manipulação higiênico-sanitária do alimento. Para a análise microbiológica deve-se coletar, assepticamente, de cada amostra suspeita 25 g, os quais serão transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 1%, estéril e homogeneizados. Essa diluição (inicial) é de 1:10 ou 10⁻¹, em que 10 g do homogeneizado estéril contém 1 grama da amostra. A partir da diluição inicial, é realizada a diluição seriada de 10⁻² e 10⁻³, mantendo sempre o mesmo diluente. Essas diluições serão usadas nos testes de identificação. Após isso, a amostra contida na água salina peptonada deve ser incubada a 37 °C por 24 horas, e as amostras transferidas para dois tipos diferentes de caldos de enriquecimento seletivo, o caldo Rappaport-Vassiliadis e o caldo Tetrationato-Novobiocina, e incubadas a 37° e 42°C, respectivamente, por 24 horas. Após esse procedimento cada amostra será semeada em placas de Petri com Ágar Verde Brilhante e em Ágar Hektoen, e novamente incubados a 37°C por 24 horas. As provas bioquímicas das colônias obtidas serão submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, prova de fermentação, prova da produção de gás sulfídrico, prova do vermelho de metila, no ágar lisina ferro e ágar tríplice açúcar ferro.

Avançando na prática

Desafiamos você, aluno, a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Surto na UAN de um hospital

Descrição da situação-problema

Uma refeição preparada e servida aos funcionários de um hospital causou um surto de infecção alimentar. O cardápio da refeição foi: carne de panela, bolinho de peixe, arroz, feijão, aipim, melancia e suco de laranja. 54 pessoas foram questionadas em um inquérito epidemiológico, das quais 46 apresentaram um quadro severo da doença. As pesquisas laboratoriais para a identificação dos possíveis alimentos e microrganismos envolvidos revelaram a presença de *Salmonella spp* nas amostras de feijão e aipim. Provavelmente, esse tipo de contaminação ocorreu de pessoa para pessoa e por meio de técnicas inadequadas de higiene e manipulação de alimentos. Diante desse cenário, descreva as técnicas microbiológicas utilizadas para a análise dos microrganismos em questão.



Lembre-se

Mas como a atividade microbiana pode ser avaliada no alimento? Para responder a essa pergunta temos que conhecer as técnicas básicas de detecção da presença ou ausência de microrganismos nos alimentos. As etapas da análise microbiológica nos alimentos compreendem 1. Amostragem; 2. A preparação da amostra; 3. Contagem de microrganismo; 4. Isolamento e identificação de microrganismos; 5. Testes bioquímicos.

Resolução da situação-problema

Para a análise microbiológica deve-se coletar, assepticamente, de cada amostra suspeita, 25 g, que serão transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 1%, estéril e homogeneizados. Essa diluição (inicial) é de 1:10 ou 10⁻¹, em que 10 g do homogeneizado estéril contém 1 grama da amostra. A partir da diluição inicial, é realizada a diluição seriada de 10⁻² e 10⁻³, mantendo sempre o mesmo diluente. Essas diluições serão usadas nos testes de identificação. Após isso, a amostra contida na água salina peptonada deve ser incubada a 37°C por 24 horas, e as amostras transferidas para dois tipos diferentes de caldos de enriquecimento seletivo, o caldo Rappaport-Vassiliadis e o caldo Tetrationato-Novobiocina, e incubadas a 37° e 42 °C, respectivamente, por 24 horas. Após esse procedimento cada amostra será semeada

em placas de Petri com ágar verde brilhante e em ágar Hektoen, e novamente incubadas a 37°C por 24 horas. As provas bioquímicas das colônias obtidas serão submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, prova de fermentação, prova da produção de gás sulfídrico, prova do vermelho de metila, no ágar lisina ferro e ágar tríplice açúcar ferro.



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Certos alimentos podem conter substâncias que atuam como fatores antimicrobianos naturais, evitando assim a proliferação de microrganismos patogênicos e/ou agentes de deterioração. Assinale a alternativa que contenha essa substância antimicrobiana:

- a) Eugenol, presente no cravo das Índias.
- b) Amilase, encontrada na saliva.
- c) Histamina, sintetizada por produtos cárneos.
- d) Pectina, presente em frutas e legumes.
- e) Lipase, presente na gema do ovo.

2. Durante a avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas, um dos métodos utilizados foi o de plaqueamento direto das amostras de polpa em meio de cultura “Batata Dextrose Agar” (BDA). Tal procedimento tinha como objetivo determinar se, nas polpas, havia a presença de organismos do tipo:

- a) Coliformes tolerantes.
- b) Coliformes totais.
- c) *Salmonella spp.*
- d) *Escherichia coli*.
- e) Bolores e leveduras.

3. Frequentemente, no laboratório de microbiologia dos alimentos, faz-se necessário o preparo de meios de cultura como parte do processo de detecção de um microrganismo específico, que possa estar associado à pouca sanidade do alimento. Um dos tipos de meio de cultura que pode ser utilizado é aquele que contém substâncias inibitórias do crescimento de determinados grupos de microrganismos, mas que permite o crescimento daqueles que se deseja isolar. Esse preparado é conhecido como meio:

- a) Diferencial.
- b) Indicador.
- c) Seletivo.
- d) Enriquecido.
- e) De crescimento.

Seção 2.4

Análise dos alimentos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à quarta seção da segunda unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre análise dos alimentos, e aprenderá os critérios e padrões microbiológicos para a análise de alimentos, as normas e especificações da RDC n. 12, de janeiro de 2001, e os principais microrganismos indicadores de contaminação do alimento.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao Estudo”, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O quarto grupo será responsável pela aplicação dos critérios dos padrões microbiológicos e pela determinação dos microrganismos indicadores de contaminação.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre os critérios e padrões microbiológicos para a análise de alimentos, as normas e especificações previstas em lei e os microrganismos indicadores serão apresentados de forma contextualizada no item “Não pode faltar”, quais são os critérios mais importantes em análise microbiológica de alimentos e normas de condutas, inclusive as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar físico da população.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar análise dos alimentos? Como pôde perceber na situação de realidade apresentada no “Convite ao estudo” durante nossos trabalhos, lidamos constantemente com as mais diversas situações de contato com pessoas, lugares e equipamentos e todas essas situações compartilhadas com microrganismos, sendo assim, saber dos critérios e padrões microbiológicos para análise de alimentos, a Lei RDC n. 12, de janeiro de 2001, e os microrganismos indicadores é muito importante e necessário na área de Ciências da Saúde. Além disso, ao final desta seção do livro didático, você, aluno, será capaz de conhecer e compreender os meios e realizar o checklist dos requisitos de análise de qualidade microbiológica dos alimentos.

O regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos foi criado por meio da RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, que estabelece os **“Padrões microbiológicos sanitários para alimentos específicos e determina os critérios para a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano”**. (Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001). Sua criação deu-se pela necessidade de aperfeiçoar as ações de controle sanitário na área de alimentos, e de proteger a saúde da população, sobretudo dos padrões microbiológicos para os alimentos e fortalecer os programas de segurança alimentar.

Desse regulamento excluem-se: a) os produtos alimentícios e as toxinas de origem microbiana, como as micotoxinas, pois para estas existem padrões definidos em legislação específica; b) as matérias-primas alimentares e produtos semielaborados destinados ao processamento industrial identificado com os seguintes dizeres: “inadequados para o consumo humano na forma como se apresentam” ou “não destinados para o consumo humano na forma como se apresentam”.

Os critérios para o estabelecimento de padrões microbiológicos sanitários em alimentos, de acordo com a RDC n. 12 de janeiro de 2001, podem ser considerados isoladamente ou em conjunto e são eles:

1. Caracterização dos microrganismos e/ou suas toxinas, considerados de interesse sanitário.
2. Classificação dos alimentos segundo o risco epidemiológico.
3. Métodos de análise que permitam a determinação dos microrganismos.
4. Plano de amostragem para a determinação do número e tamanho de unidades de amostras a serem analisadas.

5. Normas e padrões de organismos internacionalmente reconhecidos, *Codex Alimentarius* e outros organismos.



Pesquise mais

Conheça a Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, que discute as definições e os procedimentos e instruções gerais, que são as normas e especificações, nos itens 3 e 5, respectivamente.

Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/CONS_leg_resolucao12-01.pdf>. Acesso em: 25 maio 2016.



Assimile

O principal objetivo do Regulamento Técnico é o de estabelecer os padrões microbiológicos sanitários para os alimentos, que estão especificados no Anexo I da referida lei. No caso de análise de produtos não caracterizados no Anexo, deve-se considerar a similaridade da natureza e do processamento do produto.

A tolerância é máxima e os padrões são mínimos para os diferentes grupos de produtos alimentícios, constantes no anexo, para fins de registro e fiscalização de produtos alimentícios.



Pesquise mais

Acesse a Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, e leia o Anexo I, em que são apresentados os padrões microbiológicos sanitários para alimentos, e o Anexo II, que contém a conclusão e interpretação dos resultados encontrados nas análises microbiológicas. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/media/CONS_leg_resolucao12-01.pdf>. Acesso em: 25 maio 2016.

Ao estudar os **Microrganismos Indicadores** você, aluno será capaz de conhecer os microrganismos indicadores de contaminação fecal de alimentos, de condições inadequadas de manipulação de alimentos, e relacionar os indicadores de qualidade sanitária dos alimentos, na produção e armazenamento.

O que são **Microrganismos Indicadores**? São um grupo ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer

informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (CARVALHO, 2010).



Exemplificando

Em uma UAN foi detectado um surto de infecção alimentar por *Salmonella sp.* Constatou-se, após análise dos alimentos ingeridos, do ambiente e dos manipuladores, que a transmissão da bactéria ocorreu por meio da mão contaminada de um manipulador.

Os critérios para microrganismos indicadores se baseiam na escolha de um microrganismo ou grupo de microrganismos para ser usado como um indicador que deverá preencher os seguintes requisitos:

1. Deve ser de rápida e fácil detecção.
2. Ser facilmente distinguível de outros microrganismos da microbiota do alimento.
3. Deve estar sempre presente quando o patógeno associado estiver.
4. Deve apresentar necessidade de crescimento semelhante às do patógeno.
5. Deve ter velocidade de morte semelhante ou levemente superior à do patógeno.
6. Deve estar ausente nos alimentos livres do patógeno ou em quantidades mínimas.



Assimile

Não é necessário que o indicador apresente todos os requisitos recomendados, porém deve apresentar a maioria deles.

O indicador de contaminação fecal e higiênico-sanitário do alimento deve conter as seguintes características:

- Habitat exclusivo do trato intestinal do homem e outros animais.
- Ocorrer em número alto nas fezes.

- Apresentar alta resistência ao ambiente extraenteral (fora do intestino).
- Para sua detecção e/ou contagem são utilizadas técnicas rápidas, simples e precisas.

São exemplos de microrganismos indicadores de contaminação fecal e higiênico-sanitário do alimento:

1. Coliformes totais: são grupos de microrganismos que fazem parte da família *Enterobacteriaceae*. Fermentam a lactose com produção de gás a 35-37°C por 48 horas e são bacilos Gram-negativos. Representam esse grupo a *Escherichia coli*, que tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais e *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, que têm como habitat primário o trato intestinal, vegetais e solo. Indicam contaminação ambiental e possível presença de patógenos fecais.

2. Coliformes fecais ou termotolerantes e *Escherichia coli*: para a determinação de coliformes fecais ou termotolerantes, o procedimento analítico é semelhante para os coliformes totais, com a diferença na temperatura de incubação que é de 44°-45°C. Quando incubado à temperatura de 44° a 45°C e existe contaminação de origem fecal, 90% das células microbianas que crescem são de *Escherichia coli* e apenas algumas células de *Enterobacter* e *Klebsiella*. Como a *Escherichia coli* é a única dentro do grupo dos coliformes que tem como habitat primário apenas o intestino, o crescimento a essa temperatura confirma a contaminação fecal. Indicam: a presença de material fecal; a possibilidade da presença de patógeno; a avaliação da qualidade da água para consumo; a avaliação da água para balneabilidade; pode indicar manipulação contaminada; pode indicar higiene deficiente dos vegetais; dependendo da contagem há risco de toxinfecção ($>10^5$ /g).

3. *Enterococcus faecalis* e *Enterobacter faecium*: esses microrganismos apresentam restrições como indicadores de contaminação fecal por estarem também em ambientes diferentes do trato intestinal. A presença deles em número elevado indica práticas sanitárias inadequadas, exceto em produtos fermentados.

4. Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias: é indicadora da qualidade sanitária dos alimentos e água de abastecimento. As amostras de alimentos ou água são semeadas em superfície ou profundidade utilizando o ágar contagem padrão e incubadas a 35°C por 48 horas. A maioria das bactérias mesófilas se multiplica nessa temperatura, incluindo os patogênicos e os deteriorantes. Mesmo na ausência de patógenos, o número elevado indica que o alimento está insalubre. Quando a quantidade é maior que 106 UFC/g do alimento, já é possível observar alterações detectáveis nesse alimento. A contagem elevada em alimentos não perecíveis indica processamento inadequado do ponto de vista sanitário ou matéria-prima contaminada, e também indica exposição à contaminação ambiental,

permanência por tempo prolongado do alimento em temperatura ambiente, armazenamento do alimento em temperatura inadequada de refrigeração, armazenamento do alimento em temperatura morna. Altas contagens de água de abastecimento (acima de 500 UFC/mL) indicam deterioração da qualidade da água, sabor e odor desagradável, formação de limo ou películas e interferências da detecção de coliformes.

4.1 Contagem de bactérias psicrófilas e termófilas: avaliam o grau de deterioração de alimentos refrigerados ou tratados termicamente.

4.2 Contagem de bactérias anaeróbias: a presença indica condições favoráveis para multiplicação de patógenos anaeróbios como *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*.

4.3 Contagem de bolores e leveduras: amostra de alimentos ou água são semeadas na superfície ou profundidade, utilizando ágar Sabouraud e incubadas a 22°C por 5 dias. A maioria dos fungos (bolores e leveduras) se multiplicam nessas condições. Em sua maioria são microrganismos de origem ambiental. Altas contagens (acima de 5.105/g) em alimentos indicam: contato excessivo com o meio ambiente, manipulação sem a devida higiene, armazenamento por tempo prolongado em refrigeração, alto risco de produzir micotoxinas alergênicas, alto risco de deterioração. Em água: a presença de *Candida albicans* (leveduras), mesmo em baixas contagens, pode indicar contaminação fecal (humana ou animal) ou contaminação humana não fecal (pele, secreções), e indica também a eficiência do tratamento de água de piscinas.

5. *Staphylococcus aureus*: a presença em número elevado no alimento indica existência de toxina, sanitização deficiente e presença de manipulador.

6. Contagem de esporos de termófilos: é usada como indicador de sanitização de vegetais.

7. Contagem de bolores em equipamento: é usada como indicadora de sanitização em equipamentos e superfícies de operações de processamento.



Reflita

No Brasil, o *Staphylococcus aureus* é o segundo agente com maior incidência em casos relacionados a surtos de doenças transmitidas por alimentos, sendo que o seu reservatório é o homem.

Microrganismos indicadores de poluição ou contaminação (requisitos): devem ter habitat definido; devem indicar com certeza a origem da contaminação; devem ser de fácil detecção; não devem ser um contaminante natural do alimento; devem estar ausentes ou em baixas contagens nos alimentos livres de patógenos; devem apresentar maior resistência aos desinfetantes e antissépticos que as bactérias patogênicas.

Microrganismos indicadores de condições sanitárias: são microrganismos que podem causar doença no ser humano, sendo classificados segundo a sua presença ou contagem nos alimentos ou água: coliformes fecais (*Escherichia coli*), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, Sulfito-Redutores (SR), *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Nesta seção, você aprendeu sobre a análise dos alimentos, estudou os critérios e padrões microbiológicos para a análise de alimentos, as normas e especificações da RDC n. 12, de janeiro de 2001, e os principais microrganismos indicadores de contaminação do alimento. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre análise dos alimentos, em que você viu os critérios e padrões microbiológicos para a análise de alimentos, as normas e especificações da RDC n. 12, de janeiro de 2001, e os principais microrganismos indicadores de contaminação do alimento, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O quarto grupo será responsável pela aplicação dos critérios dos padrões microbiológicos e determinação dos microrganismos indicadores de contaminação.

Para resolver a situação-problema vamos lembrar alguns conceitos importantes, que o ajudará a resolver o problema exposto.



Atenção

Microrganismos indicadores são um grupo ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias

inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FURTADO; MELLO; SCHNEID, [s.d.]).

Pensando na situação-problema, foi a quebra de conduta em relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatória por lei a qualquer estabelecimento comercial onde há manipulação, comercialização e armazenamento de alimentos. Geralmente, no controle de qualidade em carcaças de frango é realizada a análise de *Salmonella spp*, coliformes fecais e coliformes totais, microrganismos indicadores, os quais comprovam contaminação pós-sanitização ou má manipulação higiênico-sanitária do alimento. Neste caso, além da temperatura de cocção ser insuficiente, o manipulador esqueceu-se de higienizar a bancada, e o binômio tempo-temperatura tanto de preparo quanto de exposição do alimento no balcão térmico favoreceu proliferação da flora mesófila patogêna contida no alimento. Os critérios de indicadores mesófilos consistem na análise da amostra analítica do alimento suspeito, as quais são semeadas por técnica de superfície utilizando ágar contagem padrão e incubadas a 35°C por 48 horas. A maioria das bactérias mesófilas se multiplicam, incluindo as patogênas. Altas contagens (acima de 10⁶ UFC/g) indicam exposição à contaminação ambiental, permanência por tempo prolongado à temperatura ambiente, armazenamento em temperatura inadequada de refrigeração, armazenamento em temperatura morna.

Avançando na prática

Desafiamos você, aluno, a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

O arroz de cada dia

Descrição da situação-problema

Do ponto de vista sanitário, preparações à base de arroz são potenciais veículos para os microrganismos responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos, se a manipulação não seguir as recomendações e procedimento apropriados. O *Bacillus cereus* é uma bactéria que causa intoxicação alimentar e, normalmente, o arroz e as preparações à base de arroz podem ser os alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções e de intoxicação de natureza alimentar. Diante do exposto, quais seriam os critérios dos padrões microbiológicos e a determinação dos microrganismo indicador de contaminação do arroz?



Lembre-se

Microrganismos indicadores de condições sanitárias: são microrganismos que podem causar doenças no ser humano, sendo classificados segundo a sua presença ou contagem nos alimentos ou água: coliformes fecais (*Escherichia coli*), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, Sulfito-Redutores (SR), *Salmonella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Resolução da situação-problema

A contagem total de bactérias mesófilas aeróbias é indicadora da qualidade sanitária dos alimentos e água de abastecimento. As amostras de alimentos ou água são semeadas em superfície ou profundidade utilizando o ágar contagem padrão e incubadas a 35°C por 48 horas. A maioria das bactérias mesófilas se multiplica nessa temperatura, incluindo os patogênicos e os deteriorantes. Mesmo na ausência de patógenos, o número elevado indica que o alimento está insalubre. Quando a quantidade é maior que 10⁶ UFC/g do alimento, já é possível observar alterações detectáveis no alimento. A contagem elevada em alimentos não perecíveis indica processamento inadequado do ponto de vista sanitário ou matéria-prima contaminada, e também indica exposição à contaminação ambiental, permanência por tempo prolongado do alimento em temperatura ambiente, armazenamento do alimento em temperatura inadequada de refrigeração, armazenamento do alimento em temperatura morna.



Faça você mesmo

Caro aluno, até esta etapa de seus estudos, você já obteve o conhecimento da contaminação de alimentos, dos fatores intrínsecos e extrínsecos que atuam no controle do crescimento microbiano, da avaliação da atividade microbiana e das análises dos alimentos. Elabore um checklist dos requisitos de análise de qualidade dos alimentos. Para isso é importante que você realize uma revisão das quatro seções da Unidade 2.

Boa sorte!

Faça valer a pena

1. Em uma UAN foi detectado um surto de infecção alimentar por *Salmonella sp.* Constatou-se, após análise dos alimentos ingeridos, do ambiente e dos manipuladores, que a transmissão da bactéria ocorreu por meio da mão contaminada de um manipulador. Assinale a alternativa que classifica a *Salmonella sp.*:

- a) Indicador sanitário.
- b) Indicador biológico.
- c) Indicador ambiental.
- d) Indicador de acidez.
- e) Indicador de poluição.

2. O *Bacillus cereus* é uma bactéria Gram-positiva, facultativamente aeróbica, formadora de esporos e produtora de dois tipos de toxina: a diarreica, que é termolábil, e a emética, que é termoestável. Os surtos relacionados a essa bactéria são caracterizados por vômitos e estão mais associados a produtos à base de arroz, embora outros produtos, como batatas, massas e queijos, também se associem a surtos relacionados a essa mesma bactéria. Assinale a alternativa correta:

- a) É considerado um indicador ambiental.
- b) É considerado um indicador de poluição.
- c) É considerado um indicador sanitário.
- d) É considerado um coliforme fecal.
- e) É considerado um coliforme total.

Fonte: <<http://rotadosconcursos.com.br/questoes-de-concursos/nutricao-microrganismos-em-alimentos>>. Acesso em: 27 jun. 2016.

3. O *Staphylococcus aureus* é o segundo agente mais frequente relacionado a surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, sendo que o seu reservatório é o(a)_____. Assinale a alternativa que completa a frase:

- a) solo.
- b) homem.
- c) roedor.
- d) água do mar.
- e) esgoto.

Referências

BRASIL, Ministério da Saúde. **Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001**. Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Brasília: Diário Oficial da União, 2001. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html>. Acesso em: 6 jul. 2016.

CARVALHO, Irineide Teixeira. **Microbiologia dos alimentos**. Recife: EDUFRPE, 2010. 84 p. Disponível em: <http://www.academia.edu/11704121/Microbiologia_dos_Alimentos>. Acesso em: 19 nov. 2016.

FIORDA, Fernanda Assumpção; DE SIQUEIRA, Maria Isabel Dantas. Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos. **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. 4, p. 817-826, 2009. Disponível em: <<http://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/viewFile/1132/791>>. Acesso em: 4 maio 2016.

FURTADO, Silvana; MELLO, Peterson; SCHNEID, Josiane. **Coliformes em alimentos**. [s.d.]. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAg2iwAK/relatoriocoliformes-alimentos#>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

HOFFMANN, Fernando Leite. Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001. Disponível em: <<http://www.signuseditora.com.br/BA/pdf/09/09%20-%20Higiene.pdf>>. Acesso em: 4 maio 2016.

KAULITZKI, Sebastian. Segurança alimentar. **Revista FIB**, São Paulo, n. 4, p. 32-43, 2008. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/54.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2016.

LUCCA, Alessandra; TORRES, Elizabeth Aparecida F. S. Condições de higiene de "cachorro-quente" comercializado em vias públicas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 350-352, 2002. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/rsp/article/download/25348/27093>>. Acesso em: 11 maio 2016.

SILVA, Neusely da, et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. ed. 4. São Paulo: Varela, 2010.

SILVA JÚNIOR, Eneo Alves da. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 2014.

SILVA, Lauriete Carlos et al. Boas práticas na manipulação de alimentos em unidades de alimentação e nutrição. **Demetra**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 797-

820, 2015. Disponível em: <<http://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/demetra/article/viewFile/16721/14504>>. Acesso em: 11 maio. 2016.

TEIXEIRA, Bruna Kelm et al. Microrganismos indicadores de condições higiênico-sanitárias em couve folhosa na região da Fronteira Oeste, RS, Brasil. **Anais do salão internacional de ensino, pesquisa e extensão**, Pampa, v. 7, n. 2, 2016. Disponível em: <<http://publicase.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/16447>>. Acesso em: 29 maio 2016.

WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista brasileira de biociências**, Porto Alegre, v. 8, n. 1, 2010. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1322>>. Acesso em: 16 maio 2016.

ZANDONADI, Renata Puppim et al. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de autosserviço. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 20, n. 1, p.19-26. jan./fev. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v20n1/a02v20n1.pdf>>. Acesso em: 11 maio 2016.

Doenças transmitidas por alimentos

Convite ao estudo

Por que estudar doenças transmitidas por alimentos? As doenças relacionadas ao consumo de alimentos são comuns em todos os países e têm se mostrado com muita frequência não só na quantidade de surtos, mas também na variedade de agentes etiológicos. Esse estudo permite a você conhecer a epidemiologia das ocorrências dessas doenças e a definição de novas estratégias de controle para evitá-las, o que é fundamental para todo profissional dedicado à área de vigilância sanitária, especialmente no que se refere à segurança alimentar.

Nesta unidade de ensino, vamos enfatizar os conceitos gerais sobre as doenças transmitidas por alimentos, o qual aborda temas sobre a vigilância sanitária de alimentos, sobre as infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos, além de técnicas de análise microbiológica em alimentos I e II, os quais englobam os laudos de análises microbiológicas.

Competência Geral:

Conhecer a relação entre a microbiologia e a conservação dos alimentos.

Competência Técnica:

Conhecer e compreender os recursos técnicos de análise microbiológica dos alimentos.

Objetivos:

- Vigilância sanitária de alimentos.
- Infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos.
- Técnicas de análise microbiológica em alimentos I.

- Técnicas de análise microbiológica em alimentos II.

A fim de auxiliar no desenvolvimento da competência acima e atender aos objetivos específicos do tema em questão, doenças transmitidas por alimentos, a seguir será apresentada uma situação hipotética que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática.

Em um curso de graduação, a professora dividiu a classe em quatro grupos de sete alunos e solicitou um trabalho sobre doenças transmitidas por alimentos. Neste trabalho, os grupos deverão analisar e resolver situações que se passam em uma UAN de uma empresa, onde a refeição preparada e servida aos funcionários causou surto de infecção alimentar. Nessa refeição foram servidos: carne de sol, bolinho de peixe, arroz, feijão, aipim e suco de laranja. Após esse episódio, foi realizado inquérito epidemiológico com a participação de 53 pessoas, das quais 47 apresentaram um quadro severo da doença. O período médio de incubação foi de 26 horas. As pesquisas laboratoriais para a identificação dos possíveis alimentos e microrganismos envolvidos no episódio e os resultados das análises revelaram a presença de *Salmonella spp.* nas amostras de feijão e aipim. Coproculturas realizadas com amostras dos manipuladores também indicaram a presença de microrganismos do gênero *Salmonella*. A análise do inquérito epidemiológico associada às pesquisas laboratoriais foi de grande importância para a identificação do alimento e dos microrganismos envolvidos.

Cada grupo de alunos deverá analisar essa situação e discutir um determinado aspecto do caso. Dessa forma, o primeiro grupo deverá identificar, dentro da situação, os parâmetros sobre a investigação do surto de origem alimentar, a notificação de ocorrências, investigação de campo e medidas de controle; o segundo grupo ficará encarregado de levantar os aspectos gerais das principais infecções intestinais causadas pela enterobactéria em questão; o terceiro grupo se encarregará de realizar o procedimento de análise microbiológica e emitir o laudo da análise realizada por técnicas de análise microbiológica e, por fim, o quarto grupo descreverá as técnicas parasitológicas pertinentes à ocasião do fato.

Analisando essa situação, você consegue imaginar quantas questões relacionadas a doenças transmitidas por alimentos, conhecidas como DTA, estão envolvidas nesse cenário? Em cada seção desta unidade você aprenderá os principais temas que envolvem as DTA que te levarão a

resolver e a compreender cada questionamento da situação.

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Seção 3.1

Vigilância sanitária de alimentos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à primeira seção da terceira unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora, você iniciará seus estudos sobre doenças transmitidas por alimentos (DTA). Aprenderá nesta seção sobre a vigilância sanitária de alimentos, que compreende a vigilância das doenças transmitidas por alimentos, a investigação de surtos de origem alimentar, ocorrências e notificações, e sobre o planejamento e a investigação de campo e medidas de controle.

Agora, vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo”, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O primeiro grupo deverá identificar, dentro da situação, os parâmetros sobre a investigação do surto de origem alimentar, a notificação de ocorrências, a investigação de campo e as medidas de controle.

Para que você consiga responder a esses e outros questionamentos sobre a conduta ideal dos manipuladores de alimentos, será apresentado de forma contextualizada no item “Não pode faltar” quais são as regras e as normas de condutas e obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir, com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar dos comensais e garantir a segurança alimentar.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar doenças transmitidas por alimentos? Percebe-se na situação de realidade apresentada no “Convite ao estudo” que as características sanitárias de um alimento constituem apenas uma das facetas que compõem o complexo problema dos alimentos com relação à saúde.

As doenças relacionadas ao consumo de alimentos são comuns em todos os países e têm se mostrado muito frequentes não só em quantidade de surtos, como na variedade de agentes etiológicos. Devido a isso, torna-se melhor o entendimento da epidemiologia dessas ocorrências e a definição de novas estratégias de controle.

As **doenças alimentares** são todas as ocorrências clínicas decorrentes da ingestão de alimentos contendo perigos ou que contenham em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas ou a ingestão inadequada de nutrientes importantes para a saúde ou mesmo as consequências clínicas devido ao aspecto sensorial repugnante ou simbólico. Já as **doenças transmitidas por alimentos (DTA)** são doenças consequentes à ingestão de perigos biológicos, químicos ou físicos presentes nos alimentos. Abrangem todas as ocorrências clínicas consequentes à ingestão de alimentos que possam estar contaminados com microrganismos patogênicos (infecciosos, toxinogênicos ou infestantes), substâncias químicas, objetos lesivos ou que contenham em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas. Alguns termos a seguir visam dar maior abrangência e entendimento sobre as ocorrências que envolvem os inúmeros agentes etiológicos das doenças alimentares:

- **Toxínose:** produção de toxina no alimento (toxicidade). Caracteriza-se pelo quadro clínico devido à ingestão de toxinas bacterianas pré-formadas nos alimentos, decorrente da multiplicação de bactérias toxinogênicas nos alimentos, como o *Staphylococcus aureus*, o *Clostridium botulinum* e o *Bacillus cereus* emético.
- **Infecção:** multiplicação microbiana no intestino (agressividade). O quadro clínico decorrente da ingestão de microrganismos patogênicos que se multiplicam no trato gastrointestinal, produzindo toxinas ou agressão ao epitélio, como a *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Escherichia coli* patogênica, *Vibrios* patogênicos etc. As infecções podem ser divididas em dois grupos: **não invasiva:** causa toxicidade, ocorre a produção de toxina no intestino (*Bacillus cereus* clássico, *Vibrio cholerae* etc.) e liberação de toxina no intestino (*Clostridium perfringens*); e **invasiva:** causa agressividade celular com destruição das células locais (*Salmonelose*, *Shigelose* etc.) e agressividade sistêmica com penetração por meio do intestino e disseminação pelo sangue (*Salmonella typhi* etc.).
- **Infestação:** são parasitoses não invasivas de interesse médico, helmintos e

protozoários com ação patogênica intestinal.

- **Intoxicação química:** é o quadro clínico decorrente da ingestão de substâncias químicas nos alimentos, como agrotóxicos, pesticidas, raticidas, metais pesados, micotoxinas, amins biogênicas, venenos, amins vasopressoras alergênicas.
- **Surto de doença transmitida por alimentos:** é a ocorrência de quadros clínicos gastroentéricos ou alérgicos em número superior às ocorrências endêmicas locais, consequentes à ingestão de alimentos em uma mesma comunidade ou coletividade, configurando uma origem de fonte comum.

Os microrganismos patogênicos em alimentos e causadores de DTA podem ser divididos em clássicos, emergentes e reemergentes. Os **patógenos clássicos** são microrganismos conhecidos epidemiologicamente e clinicamente mais frequentes em casos de surtos. Exemplos: **Bactérias** - *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (emético e diarreico), *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella spp*, *Yersina enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahae-molyticus*. **Vírus** - Hepatite A, Rotavírus. **Parasitas** - *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium parvum*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Toxoplasma gondii*. Os **patógenos emergentes** são microrganismos que não eram reconhecidos como causadores de toxinfecções alimentares e que estão sendo comprovados como novos agentes etiológicos. Exemplos: **Bactérias** - *Escherichia coli* enteroinvasiva e enterohemorrágica, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.* **Vírus** - Hepatite E, Novovírus (Norwalk).



Assimile

Doenças transmitidas por alimentos (DTA) são doenças consequentes à ingestão de perigos biológicos, químicos ou físicos presentes nos alimentos. Abrangem todas as ocorrências clínicas consequentes à ingestão de alimentos que possam estar contaminados com microrganismos patogênicos (infecciosos, toxinogênicos ou infestantes), substâncias químicas, objetos lesivos ou que contenham em sua constituição estruturas naturalmente tóxicas.

De acordo com Manual integrado de vigilância de alimentos (2010), a vigilância das doenças transmitidas por alimentos e vigilância epidemiológica é o conjunto de ações que proporcionam o conhecimento, a detecção ou a prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar medidas de prevenção e controle das doenças e agravos. Essa integração foi fundamentada nas

considerações de que a prática da fiscalização sanitária de alimentos deve integrar as ações de vigilância sanitária e as avaliações de risco epidemiológico dentro das prioridades locais, seguindo as determinações do SUS.

A investigação de surtos de origem alimentar, ocorrência e notificação

O Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica prioriza a notificação de casos de doenças de notificação de surtos de qualquer etiologia. A Vigilância das DTA está voltada à notificação e à investigação de surtos e estes são causados por inúmeros agentes etiológicos e variadas manifestações clínicas.

A investigação começa com a identificação dos **comensais** (doentes e não doentes), com definição do **caso e do período de incubação** para elaboração de hipóteses em relação ao **agente etiológico e o alimento suspeito**. Após a análise dos dados, é possível avaliar o risco a que os comensais foram expostos, os alimentos incriminados e os pontos críticos que possibilitaram a ocorrência do surto. As medidas de prevenção e controle devem ser tomadas em paralelo à investigação e de acordo com a situação encontrada.

Investigação de surto de DTA

A investigação epidemiológica é realizada a partir de ações de vários setores com o objetivo de coletar informações, diagnosticar a doença e identificar os agentes etiológicos relacionados ao surto, identificar a população de risco, identificar os fatores de risco, identificar a provável fonte de contaminação, propor medidas de prevenção e controle, divulgar os resultados da investigação epidemiológica e evitar que novos surtos ocorram.

Notificação é a ação a partir da qual desencadeia-se o processo **informação → decisão → ação**. É imprescindível que a notificação seja imediata ao setor municipal de saúde responsável pela vigilância epidemiológica.



Pesquise mais

Neste link você poderá pesquisar mais a respeito da vigilância das doenças transmitidas por alimentos e ver os formulários de questionamentos para os casos de surtos, conhecimento de ocorrência e notificação.

Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos / Ministério da Saúde. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos>. Acesso em: 11 jun. 2016.

Certas orientações devem ser dadas ao notificante no momento do conhecimento do surto, no sentido de evitar que os alimentos suspeitos continuem a ser consumidos ou vendidos: guardar, sob refrigeração, todas as sobras de alimentos até a chegada do grupo encarregado pela investigação, preservar as embalagens, orientar os doentes a procurarem o serviço de saúde e a não fazerem automedicação.

Planejamento, investigação de campo e medidas de controle

No **planejamento**, a cooperação e o intercâmbio rápido de informações entre os serviços envolvidos são os fatores essenciais para a boa qualidade da investigação. Os serviços devem estar organizados para providenciar, imediatamente, meio de transporte, formulários, material para coleta de amostras. Todo o **planejamento inicial** deve ser feito o mais rápido possível a partir do conhecimento do surto, sua magnitude, lugar onde se encontram os comensais (podem estar concentrados ou dispersos em hospitais, domicílios ou locais de trabalho) e local de ingestão do alimento suspeito.

A responsabilidade e a coordenação da investigação devem ser delegadas a um profissional da vigilância epidemiológica que terá a responsabilidade de informar e acionar os demais membros da equipe. O laboratório deve ser informado imediatamente da ocorrência para seu planejamento, organização e preparo dos meios de cultura.



Exemplificando

Em muitos casos de surtos, não é possível fazer as pesquisas laboratoriais. Quando isso acontece, o emprego isolado do inquérito epidemiológico, que investiga a sintomatologia envolvida e os alimentos consumidos, também permite traçar possíveis agentes envolvidos na doença veiculada por alimentos e fatores determinantes para sua ocorrência.

A **atividade de campo** é uma ação imediata à notificação. Caracteriza-se pelo deslocamento de uma equipe aos locais onde se encontram os comensais que foram expostos (doentes e não doentes), com a finalidade de obtenção de informações epidemiológicas.

Na **investigação do surto** serão desenvolvidas atividades relacionadas a: comensais; definição de caso; coleta de amostras clínicas; inspeção sanitária; coleta de amostras bromatológicas e toxicológicas.

- **Comensais:** são as pessoas que participaram da mesma refeição, incluindo os manipuladores de alimentos. Deve-se entrevistar o maior número possível

de comensais expostos doentes e não doentes, utilizando o **Formulário de inquérito coletivo de surto de doença transmitida por alimento**. Em surtos de grande magnitude, o inquérito pode ser feito por amostragem proporcional à natureza do evento. Quando não houver condições das entrevistas serem realizadas por um profissional de saúde, poderá ser utilizada a **Ficha individual de investigação de doença transmitida por alimento**, a ser preenchida pelo próprio comensal para devolução imediata.

- **Definição de caso:** a definição de caso permite identificar os doentes relacionados ao surto, o cálculo da taxa de ataque, os alimentos suspeitos e os prováveis agentes etiológicos causadores do surto.
- **Coleta de amostras clínicas:** as amostras devem ser coletadas por ocasião do inquérito, o mais precocemente possível, e de preferência antes do tratamento. O quadro clínico dos doentes deverá ser avaliado para se obter informações que orientarão a hipótese diagnóstica, a terapêutica e, por conseguinte, indicará os tipos de amostras clínicas mais apropriadas que deverão ser coletadas para exame laboratorial.



Pesquise mais

Neste link, você poderá ver os formulários de investigação de DTA, e sobre a coleta das amostras clínicas e a coleta de amostras bromatológicas e toxicológicas.

Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos/Ministério da Saúde. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos>. Acesso em: 11 jun. 2016.

Inspeção sanitária é o procedimento da fiscalização efetuada pela autoridade sanitária, que avalia em toda a cadeia alimentar as Boas Práticas de Fabricação (BPF), com vistas a atingir o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ).

Coleta de amostras bromatológicas e toxicológicas: é importante que a amostra seja constituída do alimento que foi consumido pelos afetados. Na impossibilidade de coletar uma determinada quantidade de alimentos, existem algumas alternativas: a) coletar alguns produtos envolvidos no preparo dos alimentos. Usar sacos plásticos esterilizados ou de primeiro uso e vidros esterilizados; b) examinar utensílios (ex.: panela, concha, colher etc.) utilizados no preparo dos alimentos caso não tenham sido lavados. Recolher esse material em sacos plásticos esterilizados ou de primeiro uso.

Medidas de prevenção e controle imediatas: têm objetivo de interromper a

propagação do surto do seguinte modo: evitar que os alimentos suspeitos continuem a ser consumidos, distribuídos e comercializados; orientar quanto à mudança no processo de manipulação, produção, acondicionamento, armazenamento e/ou conservação do alimento; realizar busca ativa de outros casos; manter informadas as unidades de saúde ou demais serviços sobre o andamento da investigação; repassar informações ao público.

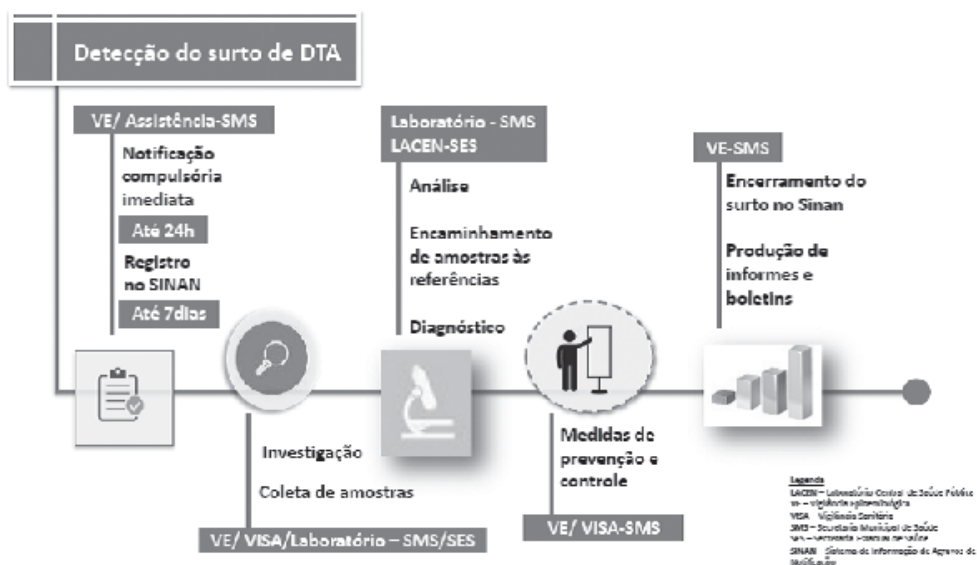


Refleta

Atualmente, os serviços de vigilância sanitária e vigilância epidemiológica dão suporte às investigações de muitas doenças transmitidas por alimentos, enquanto os laboratórios centrais de saúde pública contribuem para essa atuação com a análise de diferentes parâmetros físico-químicos e microbiológicos que afetam a qualidade dos alimentos consumidos pela população.

Na Figura 3.1, vemos o esquema de vigilância das doenças transmitidas por alimentos desde a investigação de um surto até o procedimento de medidas de controle.

Figura 3.1 | Investigação de surto de DTA



Fonte: <www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 14 jun. 2016.

Nesta seção, você aprendeu sobre a vigilância das doenças transmitidas por alimentos, a conduta de investigações de surtos de origem alimentar, ocorrência, notificação, planejamento e medidas de controle. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre a vigilância sanitária dos alimentos, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O primeiro grupo deverá identificar, dentro da situação, os parâmetros sobre a investigação do surto de origem alimentar, a notificação de ocorrências, a investigação de campo e as medidas de controle.



Atenção

A vigilância das doenças transmitidas por alimentos e vigilância epidemiológica são o conjunto de ações que proporcionam o conhecimento, a detecção ou prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar medidas de prevenção e controle das doenças e agravos.

Pensando na situação exposta na situação-problema, foi a quebra de conduta com relação às técnicas higiênico-sanitárias que resultou na proliferação de microrganismos patógenos e, por conseguinte, a contaminação biológica do alimento. A vigilância das DTA está voltada à notificação e à investigação de surtos e estes são causados por inúmeros agentes etiológicos e variadas manifestações clínicas. A investigação inicia-se na identificação dos comensais (doentes e não doentes), com definição do caso e do período de incubação para elaboração de hipóteses em relação ao agente etiológico e ao alimento suspeito. Após a análise dos dados, é possível avaliar o risco a que os comensais foram expostos, os alimentos incriminados e os pontos críticos que possibilitaram a ocorrência do surto. As medidas de prevenção e controle devem ser tomadas em paralelo à investigação e de acordo com a situação encontrada. Nesse caso, os comensais foram formados pelos funcionários e manipuladores da refeição, a definição do caso foi um surto de infecção alimentar ocorrido na UAN de uma empresa, o período médio de incubação foi de 26 horas, o agente etiológico revelado em análises laboratoriais foi a *Salmonella spp.*, os alimentos suspeitos foram todos os que constam do

cardápio, os alimentos incriminados foram o feijão e o aipim, os pontos críticos de controle foram decorrentes das condições higiênico-sanitárias de manipuladores e os exames laboratoriais empregados foram de coprocultura em todos os suspeitos envolvidos no caso. Certamente, após a descoberta desse fato, a medida de controle cabível seria evitar que os alimentos suspeitos continuassem a ser consumidos e orientar os funcionários quanto à mudança no processo de manipulação, produção, acondicionamento, armazenamento e/ou conservação do alimento.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com a de seus colegas.

Mal-estar coletivo

Seis horas após almoço no restaurante (x), um grupo de pessoas apresentou sintomas de cólicas abdominais e diarreia. De acordo com a avaliação da vigilância sanitária, o único alimento ingerido em comum foi uma carne assada de panela, que fora cozida um dia antes da distribuição, mantida fora da refrigeração, reaquecida à temperatura de 55°C e posteriormente distribuída. Segundo o laboratório de análises, o agente causador da doença transmitida ao alimento foi a bactéria *Listeria monocitogenes*. Considerando essa situação, identifique os parâmetros sobre a investigação do surto de origem alimentar, a notificação de ocorrências, a investigação de campo e as medidas de controle.



Lembre-se

A vigilância das doenças transmitidas por alimentos e vigilância epidemiológica são o conjunto de ações que proporcionam o conhecimento, a detecção ou a prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar medidas de prevenção e controle das doenças e agravos.

Resolução da situação-problema

Nesse caso, os comensais foram os consumidores e manipuladores da refeição, a definição do caso foi um mal-estar ocorrido 6 horas após o almoço, o período médio de incubação foi de 6 horas, o agente etiológico revelado em análises laboratoriais foi a bactéria *Listeria monocitogenes*, os alimentos suspeitos foram

todos os que constam do cardápio, o alimento incriminado foi a carne assada de panela, os pontos críticos de controle foram decorrentes das condições higiênico-sanitárias de manipuladores e do binômio tempo-temperatura dos procedimentos e o exame laboratorial empregado foi o microbiológico em todos os alimentos suspeitos. Certamente, após a descoberta desse fato, a medida de controle cabível seria evitar que os alimentos suspeitos continuassem a ser consumidos e orientar os funcionários quanto à mudança no processo de manipulação, produção, acondicionamento, armazenamento e/ou conservação do alimento.



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. A ingestão de alimentos contaminados por chumbo, um elemento tóxico sistêmico, produz no organismo diferentes quadros de intoxicação, variando, em seu estágio inicial, desde anemia até, em estágios mais avançados, grave comprometimento do sistema nervoso. Assinale a alternativa correta a respeito dos alimentos contaminados por chumbo:

- a) É um tipo de DTA.
- b) É um tipo de infestação.
- c) É um tipo de infecção.
- d) É um tipo de alimento probiótico.
- e) É um tipo de alimento prebiótico.

2. Medidas de prevenção e controle imediato têm objetivo de interromper a propagação do surto do seguinte modo:

- a) Liberar os alimentos suspeitos para serem consumidos, distribuídos e comercializados.
- b) Não procurar ocorrência de outros casos.
- c) Não manter informadas as unidades de saúde ou demais serviços sobre o andamento da investigação.
- d) Repassar informações ao público.

e) Ser negligente à situação do surto.

3. Em casos de surto, é fundamental que a coleta de amostras bromatológicas e toxicológicas seja constituída do alimento que foi consumido pelos afetados. Na impossibilidade de se coletar uma determinada quantidade de alimentos, existem algumas alternativas, tais como:

- a) Coletar as amostras em sacos plásticos ou vidros.
- b) Coletar alguns produtos envolvidos no preparo do alimentos.
- c) Coletar utensílios utilizados no preparo do alimento suspeito, após lavagem.
- d) Coletar adornos dos manipuladores dos alimentos.
- e) Coletar fio de cabelo dos envolvidos.

Seção 3.2

Infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à segunda seção da terceira unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos, e aprenderá nesta seção sobre as infecções intestinais causadas por enterobactérias (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.* e *Escherichia coli*), sobre os aspectos gerais dos principais parasitas causadores de doenças transmitidas por alimentos em humanos (toxoplasmose, doença de Chagas, giardíase, amebíase, teníase, ascaridíase e ancilostomíase), e também fungos e micotoxinas em alimentos.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo” que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O segundo grupo ficará encarregado de levantar os aspectos gerais das principais infecções intestinais causadas pela enterobactéria em questão.

Analisando essa situação, podemos observar quantas questões relacionadas a doenças transmitidas por alimentos, conhecidas como DTA, estão envolvidas nesse cenário. Assim, em cada seção desta unidade você aprenderá os principais temas que envolvem as DTA e que te levarão a resolver e a compreender cada questionamento da situação.

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Não pode faltar

Para melhor entendimento das infecções intestinais causadas por enterobactérias, que são bactérias Gram-negativas muito abundantes, incluindo uma grande variedade de bactérias patogênicas, e levam às toxinfecções alimentares, estudaremos as mais comuns, principalmente sobre os itens: características do agente, período de incubação, sintomas, alimentos veículos, amostras de laboratório e métodos de análise, e, por fim, medidas de controle.

Salmonella spp. (Salmonelose): as **características do agente** são bactérias Gram-negativas, bastonetes, móveis, geralmente aeróbio. São conhecidos mais de 1.600 sorotipos, mas apenas 50 ocorrem com mais frequência. O **período de incubação** é de 5 a 72 horas, comumente 12 a 36 horas. Os **sintomas** são diarreia, dores abdominais, calafrios, febre, vômito, desidratação, prostração, dores de cabeça e mal-estar, que duram por vários dias. Enterite ou infecção fecal também podem ocorrer. As **fontes** são fezes de animais domésticos ou selvagens infectados ou o próprio homem. Os **reservatórios** são crianças, idosos ou pessoas com outras doenças concomitante. O estado do portador persiste geralmente por alguns dias ou semanas, mas pode, às vezes, persistir por meses. Os **alimentos veículos** são carnes, aves, ovos, produtos de ovos (maionese, mousse), leite cru. Os **materiais para laboratório** são amostras de fezes, esfregaços anais e alimentos suspeitos. Os **métodos de análise** são por análise microbiológica com enriquecimento seletivo, sorotipificação e tipificação de fase, quando indicado. As **medidas de controle** baseiam-se em resfriar rapidamente alimentos em volumes reduzidos, cozimento intenso. Usar ovos e leites pasteurizados, evitar contaminação cruzada de áreas limpas e sujas ou de alimentos crus e cozidos, lavar as mãos e sanear equipamentos. Manter boas práticas de saneamento rural, higiene pessoal e manipulação higiênica. Proteger os alimentos de excretas de animais (humanos, pássaros, roedores etc.) e insetos.

Shigella spp. (Shigelose): as **características dos agentes** são bastonetes Gram-negativos, imóveis, aeróbios ou facultativamente anaeróbios. O **período de incubação** de 1 a 7 dias, usualmente menos que 4 dias. Os **sintomas** são muitos e variáveis, desde suaves a severos, com dores abdominais, febre, calafrios, diarreia aquosa, frequentemente com sangue, muco ou pus, dores de cabeça, prostração, náusea e desidratação. Tem como **fonte e reservatórios** fezes de pessoas infectadas, cuja transmissão mais frequente é por contato direto ou por meio da água. Os **alimentos veículos** são leite, feijão, batata, peixe e camarão. Os **materiais para laboratório** de análise são as fezes de pessoas infectadas e alimentos suspeitos. Os **métodos** de análise são por técnicas microbiológicas, usando o isolamento seletivo, a identificação bioquímica e a sorotipificação. As **medidas de controle** baseiam-se na higiene pessoal, em refrigerar os alimentos rapidamente em pequenas porções, boa cocção dos alimentos e saneamento

geral (água, esgoto, proliferação de insetos, como moscas).

***Yersinia enterocolítica* (Yersiniose):** as **características do agente** são bastonetes Gram-negativos e vegetam discretamente em meios para isolamento de enterobactérias. O **período de incubação** é de 24-36 horas ou mais. Os **sintomas** são de gastroenterite, ileíte terminal e pseudoapendicite com possíveis complicações. Tem como **fontes** fezes, água e alimentos, e os suínos são os **reservatórios** mais importantes. As moscas podem transmitir esse parasita. Os **alimentos veículos** são a carne de porco, os vegetais, o leite, o queijo, os pescados e os embutidos. Os **materiais para laboratório** de análise são as fezes de pacientes e os alimentos suspeitos. Os **métodos de análise** são os microbiológicos com meios de isolamento e identificação, seguidos de determinação do biótipo e sorotipos. As medidas de controle baseiam-se na higiene ambiental e na cocção apropriadas dos alimentos.

***Escherichia coli* (E.coli) infecção enteropatogênica:** as **características do agente** são bastonetes Gram-negativos sem esporos, aeróbios ou facultativamente anaeróbios, fermentam a lactose, indol positivos, vermelho de metil positivos, *Voges Proskauer* negativos, citrato negativos e possuem 150 antígenos. O **período de incubação** é de 8 a 24 horas no tipo invasivo, de 8 a 44 horas no tipo enterotoxigênico. Os **sintomas**, na forma invasiva, são: febres, calafrios, dores de cabeça, mialgia, espasmos abdominais, diarreia aquosa profusa semelhante à *Shigellose*. Na forma enterotóxica: diarreia semelhante à água de arroz, vômito, desidratação e choque, semelhante à cólera. Tem como **fontes e reservatórios** fezes de pessoas infectadas, transmissão de pessoa a pessoa, contaminação cruzada entre alimentos crus com os cozidos, contaminação cruzada com utensílios não desinfetados. Popularmente é conhecida como a “diarreia do viajante ou do turista”. Os alimentos veiculadores são café, queijo e salmão. Os **materiais para laboratório** de análises são as fezes, os alimentos suspeitos e a água. Os **métodos de análise** baseiam-se nos métodos microbiológicos com cultura em meio seletivo, identificação bioquímica e sorotipificação. Como **medidas de controle**, deve-se resfriar os alimentos rapidamente em porções pequenas, cozinhar intensamente, praticar higiene pessoal e aplicar os princípios de saneamento básico.



Assimile

Enquanto a *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), um dos tipos de *E. coli* patogênica transmitida por alimentos, localiza-se especificamente no intestino delgado, a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) habita a totalidade do intestino.



Pesquise mais

Caro aluno, neste link há sugestão para o estudo sobre as enterobactérias responsáveis pelas DTAs. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/198.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2016.

Agora, vamos estudar sobre os aspectos gerais dos **principais parasitas causadores de doenças transmitidas por alimentos** em humanos, principalmente sobre os itens: características do agente, período de incubação, sintomas, alimentos veículos, amostras de laboratório e métodos de análise, e, por fim, medidas de controle:

***Toxoplasma gondii* (Toxoplasmose):** a **característica do agente** é um esporozoário com formato de lua crescente, e sobrevive pouco tempo em ambiente extracelular. Seu **período de incubação** é cerca de 10 a 13 dias, e tem como **sintomas** febre, linfocitose, dores musculares generalizadas, dores de cabeça e calafrios. Sua **fonte** é desconhecida e seu **reservatório** se encontra em suínos, gatos, bovinos, carneiros e aves, e ocorre transmissão placentária em mulheres infestadas. Alimentos veículos cisto em carne. Para **amostras de laboratório** e **método de análise**, são coletadas amostras de tecidos afetados, sangue e biópsia de nódulos linfáticos. A microscopia, testes cutâneos e sorológicos são os indicados. Como **medidas de controle** recomenda-se a higiene pessoal, congelamento de alimentos e cozimento apropriado dos alimentos.

***Trypanosoma cruzi* (Doença de Chagas ou Tripanossomíase):** a **característica do agente** é um protozoário e transmitida por inseto da subfamília *Triantominae*. Seu **período de incubação** é de 8 a 12 semanas. Os **sintomas** na fase inicial são febre, inchaço nos gânglios linfáticos e no local da mordida, dor de cabeça. Na fase crônica da doença, que ocorre de 10 a 30 anos depois da fase inicial, inicia-se o alargamento dos ventrículos do coração, causando um quadro de insuficiência cardíaca. Tem como **fonte** e **reservatório** o *T. cruzi*, que é transmitido para humanos por via vetorial, por meio do contágio das fezes desses insetos, conhecidos como "barbeiros". A doença também pode ser transmitida por transfusão de sangue, transplante de órgãos. Os **alimentos veículos** são alimentos contaminados com o parasita. O material para laboratório: são recolhidas amostras de sangue, com testes sorológicos. O **método** é a microscopia feita no sangue, à procura de anticorpos de *T. cruzi*. As **medidas de controle** envolvem a eliminação dos barbeiros. Outros esforços de prevenção incluem a triagem do sangue usado para transfusões.



Assimile

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanossoma cruzi*, provoca uma infecção que pode ser transmitida ao homem pela via vetorial (picada de barbeiro), e também por via oral (ingestão de alimentos contaminados).

Giardia lamblia (giardíase): a **característica do agente** é um protozoário flagelado formador de cistos, tem como habitat o intestino delgado. Seu **período de incubação** é de 1 a 6 semanas, e tem como sintomas diarreia, fezes mucosas e gordurosas, dores abdominais, náuseas, fraquezas, vômito, desidratação e febre baixa, dores de cabeça. Tem como **fonte** e **reservatório** cistos em fezes humanas, comum em áreas de clima quente e em crianças. Alimentos veículos são os alimentos crus. **Material para laboratório:** são coletadas amostras de fezes, para serem analisados pelo **método de microscopia**. Como **medida de controle** recomenda-se a higiene pessoal, cocção intensa dos alimentos e saneamento básico.

Entamoeba histolytica (amebíase, disenteria amebiana): a **característica do agente** é a de possuir quatro estágios (trofozoíto, pré-cisto, cisto e metacisto). O estágio vegetativo (trofozoíto) é muito frágil e não sobrevive a dessecação. O cisto tem sua parede permeabilizada no intestino e libera a forma vegetativa que invade a mucosa do cólon. O adulto (nematóide grande) vive na luz intestinal e os ovos são muito resistentes, podendo permanecer viáveis por mais de um ano. A **contaminação** ocorre por meio do contato de fezes humanas no ato da manipulação de alimentos, após a cocção ou contaminação de água de consumo. Os **alimentos veículos** são as frutas, as verduras e os legumes, água contaminada ou não tratada. O **período de incubação** varia de cinco a várias semanas, e os **sintomas** são desconforto abdominal, diarreia, constipação, sangue e muco nas fezes, dores de cabeça, abscessos no fígado, pulmão ou cérebro. Tem como **fonte** de **reservatório** fezes humanas, contendo cistos. **Medidas de controle:** praticar higiene pessoal, saneamento básico, controle de moscas e evitar o uso de excretas humanas em adubos. **Material para laboratório:** fezes, exsudato de lesões, material de úlceras duodenais. A microscopia é o **método de análise** na procura de cistos e sorologia.



Exemplificando

A contaminação de alimentos por cistos maduros de *Entamoeba histolytica* pode ocorrer de forma indireta, como alimentos mantidos em locais desprotegidos e sujeitos ao contato de poeira contendo cistos. Ao contrário de outras amebas, essa espécie de protozoário tem atividade patogênica em humanos provocando amebíase.

A **Teníase** é dividida em *Taenia saginata* (solitária bovina) e *Taenia solium* (solitária suína):

***Taenia saginata* (solitária bovina):** a **característica do agente** é um cestóide cuja larva (*Cysticercus bovis*) se transforma em adulto no intestino delgado com um comprimento médio de 5 metros, os ovos permanecem viáveis por seis meses. O **período de incubação** é de três a seis meses, os **sintomas** são nervosismo, insônia, anorexia, perda de peso, dores abdominais, náusea, vômito, cólicas e diarreias. Tem como **fonte e reservatório** as fezes humanas, contendo ovos ou proglotes, a fonte imediata é a carne de gado infestado. Os **alimentos envolvidos** são as carnes bovinas. O **material para laboratório** são amostras de fezes e carne, que serão examinadas pelo **método** da microscopia. Como **medida de controle** deve-se dispor o esgoto de maneira sanitária, inspecionar a carne, cozinhar a carne intensamente, evitar a pastagem em pastos contaminados por fezes humanas e tratar os casos.

***Taenia solium* (solitária suína):** a **característica do agente** é um cestóide menor que o precedente, *Taenia saginata*, (3 metros), e possui o mesmo **período de incubação** e **sintomas**. Tem como **fonte e reservatórios** fezes humanas, contendo ovos ou proglotes, e carnes de suínos infestados. Os **alimentos envolvidos** são as carnes suínas. O **material para laboratório** são amostras de fezes humanas e carnes, o **método de análise** usado é a microscopia na procura de ovos e proglotes. Como **medida de controle** deve-se realizar a mesma medida do caso acima, porém aplicadas a suínos.



Refleta

A infecção transmitida por alimentos resulta da ingestão de alimento contendo determinada quantidade de microrganismos patogênicos e capazes de produzir ou liberar toxinas, quando ingeridos.

***Ascaris lumbricoides* (Ascaridíase):** a **característica do agente** é um nematoídeo grande, o adulto vive na luz intestinal humana, e os ovos são muito resistentes. O **período de incubação** é de dois meses, com distúrbios digestivos, dores abdominais, irritabilidade e sono perturbado. Presença de parasita adulto nas fezes ou em vômitos. Pode ocorrer envolvimento pulmonar e, nas infestações maciças, obstrução intestinal. Tem como **fonte e reservatórios** a luz intestinal na forma adulta e os ovos, muitos resistentes, e podem permanecer viáveis por mais de um ano. Os **alimentos veículos** são os vegetais, as verduras e as hortaliças contaminadas. Nas regiões quentes e úmidas pode atacar mais de 50% da população. **Material para laboratório:** faz-se o exame de fezes, pelo método de microscopia (na procura de ovos e testes sorológicos). Como **medidas de controle**, temos o saneamento básico, higiene pessoal, cozimento adequado de alimentos, evitando o uso de

fezes humanas como adubo, o tratamento é feito com anti-helmíntico a cada seis meses ou um ano em áreas endêmicas.

***Ancylostoma duodenale* (Ancilostomíase):** a **característica do agente** é um nematoide que promove doenças parasitárias infecciosas intestinais. O **período de incubação** é de 1 a 2 dias, os **sintomas** são sensações de picadas no local por onde penetram na pele, provocando inchaço e coceira por vários dias e, às vezes, reações alérgicas, seguidos de diarreia ou constipação, cólica e dor de barriga, náusea e vômito. Essa doença é popularmente conhecida como amarelão e pode ser causada por dois vermes, o ancilóstomo e o necátor. Tem como **fonte** fezes humanas e **reservatórios** o homem, quando penetram pela pele invadem os vasos linfáticos e sanguíneos, e, no fim do ciclo, chegam ao intestino, no qual se fixam e se desenvolvem. Os **alimentos veículos** são a água ou os alimentos contaminados. Os **materiais para laboratório** são utilizados exames de fezes e nos casos agudos a infestação é exame de sangue. O **método** usado é a microscopia. As **medidas de controle** são utilizar calçados, evitar contato com o solo contaminado e higiene pessoal. Medicamentos anti-helmíntico, como albendazol e mebendazol, são as drogas de escolha para o tratamento de infecções por parasitas.



Pesquise mais

Caro aluno, neste link você encontrará uma sugestão para o estudo sobre as enteroparasitas responsáveis pelas DTAs. É o artigo *Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses e práticas de higiene de manipuladores de alimentos: revisão da literatura*, publicado na Revista Saúde e Pesquisa, v. 7, n. 1, p. 147-157, jan./abr. 2014 - ISSN 1983-1870. Disponível em: <<http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/download/2634/2196>>. Acesso em: 24 jun. 2016.

Além dos vermes parasitas estudados anteriormente, também estudaremos os aspectos gerais dos principais fungos e micotoxinas, causadores de doenças transmitidas por alimentos em humanos, principalmente sobre os itens: características do agente, período de incubação, sintomas, alimentos veículos, amostras de laboratório e métodos de análise, e, por fim, medidas de controle.

***Aspergillus flavus orysoe* que produz Aflatoxina B1, B2, G1, G2 (Aflatoxicose):** **característica do agente:** o fungo é cosmopolita e cresce praticamente em qualquer substrato, é carcinogênico para ratos e termooestável. O **período de incubação** é de poucas semanas, os sintomas são febre baixa, icterícia, ascite e edema dos pés, infiltração gordurosa e cirrose do fígado. As **fontes e reservatórios** do fungo são o solo e o ar. Os **alimentos veículos** são farelo de algodão, castanha-do-pará, amendoim, soja, milho e outros grãos, além de rações animais. O **material**

para **laboratório** utilizado são amostras de ração, nozes e grãos. Os **métodos de análises** utilizados são o isolamento dos fungos, microscopia, extração, teste cutâneo e cromatografia. As **medidas de controle** baseiam-se em controlar a umidade durante o armazenamento desses alimentos e prevenir contaminação com insetos e mofo.



Pesquise mais

Caro aluno, neste link você encontrará uma sugestão para o estudo sobre os enteroparasitas, enterobactérias e fungos responsáveis pelas DTAs. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2016.



Exemplificando

A Organização Mundial de Saúde publicou o relatório técnico *Dieta, nutrição e prevenção de doenças crônicas*, cujas recomendações foram classificadas de acordo com os níveis de evidência científica, e é considerado uma das mais importantes referências para direcionamento de pesquisas ou de políticas públicas em saúde. Em seu 5º capítulo, o relatório apresenta as recomendações para prevenção de câncer em três níveis de evidência: convincente, provável e possível, dos quais os dois primeiros níveis são considerados suficientes e o último insuficiente para sustentar as decisões em saúde pública. A ingestão de alimentos contaminados com aflatoxinas é considerada, de maneira convincente, importante fator de risco de câncer de fígado, o que acontece de forma mais frequente em países em desenvolvimento.

Nesta seção, você aprendeu sobre as infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos, principalmente sobre os itens: características do agente, período de incubação, sintomas, alimentos veículos, amostras de laboratório e métodos de análise, e, por fim, medidas de controle. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O

segundo grupo ficará encarregado de levantar os aspectos gerais das principais infecções intestinais causadas pela enterobactéria em questão.



Atenção

A contaminação de pessoa para pessoa e por utilização de técnicas inadequadas de higiene, são típicos de infecção por *Salmonella spp.*

Pensando no exposto na situação-problema, foi a quebra de conduta com relação às técnicas higiênico-sanitárias que resultou na proliferação de microrganismos patógenos, e, por conseguinte, na contaminação biológica do alimento. A análise do inquérito epidemiológico associado às pesquisas laboratoriais foi de grande importância para a identificação do alimento e dos microrganismos envolvidos. Nesse caso, houve um quadro de toxinfecção ocasionado por Salmonelose. A característica do agente etiológico, uma enterobactéria Gram-negativa, geralmente aeróbia. O período de incubação é de cinco a 72 horas, comumente 12 a 36 horas. Os sintomas são diarreia, dores abdominais, calafrios, febre, vômito, desidratação, prostração, dores de cabeça e mal-estar, que duram por vários dias. Enterite ou infecção fecal também podem ocorrer. As fontes são fezes de animais domésticos ou selvagens infectados ou o próprio homem. Os reservatórios são crianças, idosos, pessoas com outras doenças concomitantes. O estado do portador persiste geralmente por alguns dias ou semanas, mas pode, às vezes, persistir por meses. Os alimentos veículos são carnes, aves, ovos, produtos de ovos (maionese, mousse) e leite cru. Os materiais para laboratório são amostras de fezes, esfregaços anais e alimentos suspeitos. Os métodos de análise são por análise microbiológica com enriquecimento seletivo, sorotipificação e tipificação de fase, quando indicado. As medidas de controle baseiam-se em resfriar rapidamente alimentos em volumes reduzidos e cozimento intenso. Usar ovos e leites pasteurizados, evitar contaminação cruzada de áreas limpas e sujas ou de alimentos crus e cozidos, lavar as mãos e sanear equipamentos. Manter boas práticas de higiene pessoal e manipulação higiênica.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com a de seus colegas.

Emergência no PA

Descrição da situação-problema

Na emergência de um pronto-socorro, no início da noite, foi atendido um casal que, após jantar no dia anterior, em casa de amigos, apresentou sintomas clássicos de gastroenterite. Eles relataram terem consumido cerveja e carne de porco desfiada como aperitivo. Os sintomas relatados são clássicos de enfermidade transmitida por alimentos, causados por *Yersina enterocolítica*. Com base na situação exposta, levante os aspectos gerais das principais características da enterobactéria em questão.



Lembre-se

A infecção transmitida por alimentos resulta da ingestão de alimento contendo determinada quantidade de microrganismos patogênicos e capazes de produzir ou liberar toxinas, quando ingeridos.

Resolução da situação-problema

Nesse caso, houve um quadro de toxinfecção ocasionado por *Yersina enterocolítica*, Yersiniose. As características do agente etiológico são enterobactérias Gram-negativas, e vegetam. O período de incubação é de 24-36 horas ou mais. Os sintomas são de gastroenterite, ileíte terminal e pseudoapendicite. Tem como fontes as fezes, a água e os alimentos, e os suínos são os reservatórios mais importantes. As moscas podem transmitir esse parasita. Os alimentos veículos são a carne de porco, os vegetais, o leite, o queijo, os pescados e os embutidos. Os materiais para laboratório de análise são as fezes de pacientes e os alimentos suspeitos. Os métodos de análise são os microbiológicos, com meios de isolamento e identificação, seguidos de determinação do biótipo e sorotipos. As medidas de controle se baseiam na higiene ambiental e na cocção apropriadas dos alimentos. A infecção transmitida por alimentos resulta da ingestão de alimento, contendo determinada quantidade de microrganismos patogênicos e capazes de produzir ou liberar toxinas, quando ingeridos. Por isso, é importante conhecer a fonte dos produtos comprados, e se estes possuem fiscalização assegurada por lei, no caso o Serviço de Inspeção Federal (SIF), feita nos alimentos de origem animal.



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento próximo a você e tente solucioná-la com base em seus estudos.

Faça valer a pena

1. O *Aspergillus flavus orysoe*, que produz Aflatoxina B1, B2, G1, G2 (Aflatoxicose), tem como característica qual agente etiológico? Assinale a alternativa correta:

- a) É um fungo cosmopolita e cresce praticamente em qualquer substrato.
- b) É um nematoide que promove doenças parasitárias infecciosas intestinais.
- c) É um cestóide cuja larva se transforma no adulto no intestino delgado com um comprimento médio de cinco metros.
- d) É um esporozoário com formato de lua crescente, e sobrevive pouco tempo em ambiente extracelular.
- e) É um bastonete Gram-negativo, e vegeta discretamente em meios para o isolamento de enterobactérias.

2. A característica do agente etiológico é um nematoide que promove doenças parasitárias infecciosas intestinais. O período de incubação é de 1 a 2 dias, os sintomas são sensação de picada no local por onde penetram na pele, provocando inchaço e coceira por vários dias e, às vezes, reações alérgicas, seguidos de diarreia, cólica e dor de barriga, náusea e vômito. Essa doença é popularmente conhecida como amarelão. Os alimentos veículos são água ou alimentos contaminados. Assinale a alternativa que representa o microrganismo em questão:

- a) *Ascaris lumbricoides*.
- b) *Ancylostoma duodenale*.
- c) *Toxoplasma gondii*.
- d) *Shigella ssp*.
- e) *Trypanosoma cruzi*.

3. *Taenia solium*, _____, a característica do agente etiológico é um _____. Tem como fonte e reservatórios fezes humanas, contendo ovos ou proglotes, e carnes de _____ infestados. Os alimentos envolvidos são as carnes suínas. Assinale a alternativa que preenche corretamente as lacunas:

- a) solitária bovina, nematoide, suínos.
- b) solitária bovina, cestóide, suínos.

- c) solitária suína, cestóide, suínos.
- d) solitária suína, nematóide, suínos.
- e) solitária suína, protozoário, bovino.

Seção 3.3

Técnicas de análise microbiológica em alimentos I

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à terceira seção da terceira unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você iniciará seus estudos sobre as técnicas de análise microbiológica em alimentos e aprenderá nesta seção sobre contagem de coliformes termotolerantes, fecais ou a 45°C; análise parasitológica de hortaliças e análise micro e macroscópica de especiarias; laudo de análise parasitológica e micro e macroscópica de alimentos; contagem coliformes totais pela técnica do número mais provável (NMP).

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo”, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nele foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O terceiro grupo se encarregará de realizar o procedimento de análise microbiológica e emitir o laudo de análise realizada por técnicas de análise microbiológica.

Analisando esta situação, você consegue imaginar quantas questões relacionadas a técnicas de análise microbiológica em alimentos estão envolvidas neste cenário? Em cada seção desta unidade, você aprenderá os principais temas que envolvem as DTA, que te levarão a resolver e compreender cada questionamento da situação.

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Não pode faltar

O estudo das técnicas de análise microbiológica em alimentos permite-nos avaliar quais e quantos microrganismos estão presentes nos alimentos, não

somente para conhecer as condições de higiene de determinado produto, como também para observar se os padrões e especificações microbiológicos, nacionais ou internacionais, estão sendo atendidos adequadamente. No Brasil, padrões microbiológicos para alimentos são definidos em nível federal, pelo Ministério da Saúde, sob a RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, os quais devem ser aprovados pela Associação Oficial de Química Analítica (*Association of Official Analytical Chemists* - AOAC). Em nível estadual, alguns estados de federação, como São Paulo, têm legislação própria.

Contagem de coliformes totais e coliformes fecais (45 °C ou termotolerantes)

Coliformes fecais são capazes de fermentar a lactose e produzir gás em 48 h a 45 °C. *Escherichia coli*, e algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella*, apresentam essas características. Contudo, a presença de *Escherichia coli* em alimentos indica contaminação fecal pelo fato de ser encontrada em grande quantidade no trato gastrointestinal do homem e animais de sangue quente. **A denominação clássica de coliformes fecais foi alterada para coliformes a 45 °C.** O Ministério da Saúde, por meio da Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), adotou a denominação coliformes a 45 °C.

A técnica do número mais provável consiste no exame de uma série de tubos nos quais foram inoculados volumes diferentes de amostra. O valor obtido resulta da consulta da tabela que foram estimuladas com base em fórmulas de probabilidade. Considerações teóricas e determinações repetidas em grande escala indicam que esse tipo de técnica tende a fornecer valores mais elevados do que o número real. As disparidades tendem a diminuir quando se adota séries com maior número de tubos em cada diluição. Portanto, a sensibilidade do teste depende do número de tubos adotados. Existem várias tabelas de NMP e a escolha da série a ser adotada é função das características microbiológicas da amostra.

O Teste Presuntivo – baseia-se na produção de gás a partir da lactose pelos microrganismos. Presume-se que esses microrganismos sejam coliformes. O meio de enriquecimento utilizado é o caldo Lauryl Sulfato Tryptose (LST). **Procedimentos:** 1. Inocule três tubos (Durham invertido no seu interior) contendo 10 mL de caldo Lauryl Sulfato Tryptose (dupla concentração) com **10 mL da amostra**; 2. Mesmo procedimento com **1 mL da amostra**; 3. Mesmo procedimento anterior com **0,1 mL da amostra**; 4. Incube a bactéria com a série de tubos a 37 °C/48h; 5. Faça a leitura considerando positivos os tubos com a presença de gás no interior (Durham).

O Teste confirmativo – no caso de **coliformes totais**, utiliza-se o meio seletivo caldo lactosado – bile verde brilhante (BVB). Nesse meio, os sais de bile inibem o crescimento das bactérias não entéricas e o verde brilhante inibe as bactérias Gram positivas e, dessa forma, seleciona os coliformes. **Procedimentos:** 1. Logo após a leitura do teste presuntivo, transfira com uma alça de platina uma alíquota de cada

tubo positivo para tubos de Durham, invertidos no seu interior, contendo caldo Lactosado BVB; 2. Incube a 35 °C por 48h; 3. Faça a leitura identificando àqueles que produziram gás como positivos; 4. Use a tabela de NMP para quantificar o número mais provável de coliformes totais por grama ou mL.

O Teste confirmativo - no caso de **coliformes fecais**, esses microrganismos são capazes de crescer a 45 °C, o que possibilita, serem avaliados separadamente. Os coliformes fecais têm em seu ambiente natural o trato intestinal. Procedimentos: 1. Logo após a leitura do teste presuntivo, transfira com uma alça de platina uma porção de cada tubo positivo para tubos de Durham, contendo caldo EC, *Escherichia coli*. 2. Incube a 45 °C por 24h, utilizando o banho-maria; 3. Faça a leitura e identifique como positivo os tubos em que ocorreu a produção de gás; 4. Use a tabela de NMP para verificar qual o número mais provável de coliformes fecais/g ou mL.



Assimile

A denominação clássica de coliformes fecais foi alterada para coliformes a 45 °C. O Ministério da Saúde, por meio da Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), adotou a denominação coliformes a 45 °C, considerando os padrões "coliformes de origem fecal" e "coliformes termotolerantes" como equivalentes a coliformes a 45 °C.

Análise parasitológica de hortaliças e análise micro e macroscópica de especiarias

Hortaliça é a planta herbácea da qual uma ou mais partes são utilizadas como alimento na sua forma natural (Resolução - CNNPA n. 12, de 1978 – Anvisa).

Características gerais das hortaliças

As hortaliças próprias para o consumo deverão ser procedentes de espécimes vegetais genuínos e sãos, e satisfazerem as seguintes condições mínimas: a) serem frescas e protegidas contra as adversidades do meio ambiente, como chuva, sol, ventos fortes; b) serem colidas ao atingir seu amadurecimento normal e apresentadas ao consumidor em perfeito estado; c) estarem limpas e livres de terra aderente; d) não possuir umidade externa anormal, odor e sabor estranhos; e) serem isentas de resíduos de fertilizantes; f) corresponder às informações do rótulo.

Características microbiológicas das hortaliças

As hortaliças devem obedecer ao seguinte padrão:

- Bactérias do grupo coliforme de origem fecal: máximo, 2×10^2 /g.

- Salmonelas: ausência de 25 g.

Deverão ser efetuadas determinações de outros microrganismos e/ou de substâncias tóxicas de origem microbiana no caso de toxinfecções alimentares.

Características microscópicas das hortaliças

Ausência de sujidades, parasitas e larvas.

Na análise parasitológica, deverão ser utilizadas as partes das hortaliças que são mais propícias à contaminação pelas parasitárias, preferencialmente àquelas de contato direto com o solo. **Procedimentos:** 1. Pesar as folhas e dividi-las em dois grupos de pesos iguais; 2. Colocar as folhas, do grupo 1, em bandejas com 1000 mL de água destilada para serem desfolhadas e higienizadas; 3. Colocar as folhas, do grupo 2, em bandejas com 1000 mL de solução de Hipoclorito de Sódio (NaCl) 10%, recém-preparada, para serem desfolhadas e higienizadas; 4. Lavar as folhas do grupo 1 e do grupo 2 com auxílio de pincéis; 5. Filtrar o líquido em gaze, vertendo-o num cálice cônico graduado, e deixá-lo sedimentar por 24 horas; 6. Após total sedimentação, descarta-se o sobrenadante; 7. Retire 0,1 mL de sedimento (com auxílio de uma pipeta Pasteur) e colocar entre lâmina e laminula corada com lugol; 7. Examinar no microscópio ótico com objetivas de 10x e 40x.; 8. Diluir o sedimento restante em tubos de 15 mL, ressuspendê-lo em solução de sulfato de zinco (Zn_2SO_4) a 33%; 9. Submeter a suspensão ao método de centrígeo-flutuação de Faust, em seguida, coletar o material flutuado, e examinar ao microscópio ótico nas mesmas condições que as anteriores.



Pesquise mais

No link a seguir, você terá acesso a um texto sobre pesquisa parasitológica de hortaliças e especiarias (condimentos e temperos) Resolução - CNNPA n. 12, de 1978, D.O., de 24 de julho de 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisaegis/resol/12_78.htm>. Acesso em: 5 jul. 2016.

Análise micro e macroscópicas de especiarias:



Especiarias ou condimento vegetal - o produto de origem vegetal que compreende certas plantas ou parte delas, que encerram substâncias aromáticas, sápidas, com ou sem valor alimentício. O condimento vegetal, de acordo com a sua composição, pode ser simples, quando constituído por uma especiaria genuína e pura, e misto quando constituído da mistura de especiarias (BRASIL, 1978).

Características microbiológicas

Os condimentos e temperos devem obedecer ao seguinte padrão:

- Bactérias do grupo coliforme de origem fecal: ausência em 1 g.
- Salmonelas: ausência em 25 g.

Características microscópicas

Ausência de sujidades, parasitos e larvas.

Procedimento para análise parasitológica e microscópica: o mesmo praticado para as hortaliças.



Exemplificando

Produtos hortifrútiis podem ser veículos para a transmissão de zoonoses quando não se utiliza água potável para irrigação.



Pesquise mais

Leia o artigo indicado a seguir: ESTEVES, Fabrício Andrade Martins; FIGUEIRÔA, Evelyne de Oliveira. Detecção de enteroparasitas em hortaliças comercializadas em feiras livres do município de Caruaru (PE). **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 33, n. 2, p. 184, 2012. <<http://inseer.ibict.br/rbsp/index.php/rbsp/article/view/204>>. Acesso em: 5 jul. /2016.



Refleta

São orientações do método recomendado para os alimentos que necessitam de lavagem e desinfecção, principalmente verduras, legumes e frutas, além daqueles que após a manipulação serão ingeridos crus. Estes devem ser colocados em imersão em água clorada, utilizando a concentração entre 100 e 200 ppm por 15 minutos.

Laudo de análise parasitológica e micro e macroscópica de alimentos

A técnica de microscopia de alimentos é uma técnica microanalítica utilizada no controle de qualidade de alimentos, com o objetivo de identificar os componentes de produtos, permitindo constatar se estes produtos estão de acordo com as

especificações da legislação vigente. Além disso, essa análise permite verificar a designação correta do produto no rótulo, a pureza dos produtos, ou se houve caso de adulteração, presença de corpo estranho e sujidades.

A Resolução n. 14, de 28 de março de 2014 (Anvisa) dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências e serve de base para os testes parasitológicos, micro e macroscópicos de alimentos, o que irá contribuir para a conclusão dos resultados dos laudos de análise.



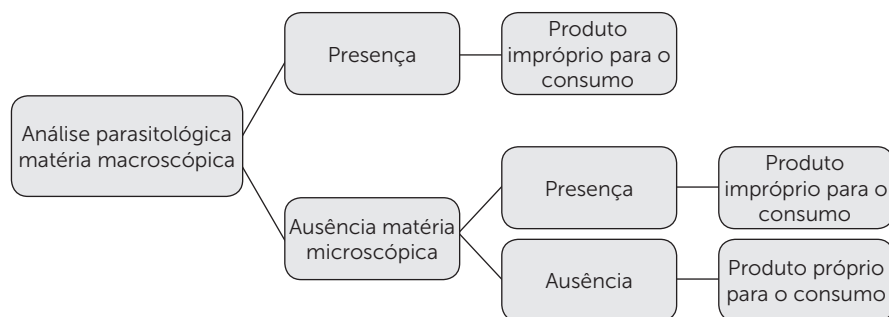
Pesquise mais

Conheça a Resolução RDC nº 14, de 28 de março de 2014, da Anvisa, que dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/media/resANVISA%2014-2014.pdf>>. Acesso em: 11 jul. 2016.

Vale ressaltar que a pesquisa por material estranho visa verificar a qualidade da matéria-prima, as condições higiênico-sanitárias empregadas no processo de fabricação e armazenamentos de alimentos. Além disso, fraudes de alimentos, com adição intencional de substâncias não próprias ao alimento durante a fabricação, visando interesses econômicos.

Os laudos de análise baseiam-se na legislação vigente do alimento, a qual possui as suas especificações, e se torna peça fundamental na conclusão da análise, podendo este ser classificado como próprio ou impróprio para o consumo. Na Figura 3.2, temos um fluxograma da análise parasitológica.

Figura 3.2 | Fluxograma de análise parasitológica



Fonte: elaborada pelo autor.

Nesta seção, você aprendeu sobre contagem de coliformes termotolerantes, fecais ou a 45°C, análise parasitológica de hortaliças e análise micro e macroscópica de especiarias, laudo de análise parasitológica e micro e macroscópica de alimentos e contagem coliformes totais pela técnica do número mais provável (NMP). A partir de agora, sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre as técnicas de análise microbiológica em alimentos, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O terceiro grupo se encarregará de realizar o procedimento de análise microbiológica e emitir o laudo de análise realizada por técnicas de análise microbiológica.



Atenção

A denominação clássica de coliformes fecais foi alterada para coliformes a 45 °C. O Ministério da Saúde, por meio da Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), adotou a denominação coliformes a 45 °C, considerando os padrões “coliformes de origem fecal” e “coliformes termotolerantes” como equivalentes a coliformes a 45 °C.

Pensando na situação exposta na situação-problema foi a quebra de conduta com relação às condições higiênico-sanitária, obrigatória por lei para qualquer estabelecimento comercial onde há a manipulação, a comercialização e o armazenamento de alimentos. Para a análise microbiológica, deve-se coletar, assepticamente, de cada amostra suspeita 25 g, os quais serão transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 1%, estéril e homogeneizados. Essa diluição (inicial) é de 1:10 ou 10-1, em que 10 g do homogeneizado estéril contém 1 grama da amostra. A partir da diluição inicial, é realizada a diluição seriada de 10-2 e 10-3, mantendo sempre o mesmo diluente. Essas diluições serão usadas nos testes de identificação. Após isso, a amostra contida na água salina peptonada deve ser incubada a 37 °C por 24 horas, e as amostras transferidas para dois tipos diferentes de caldos de enriquecimento seletivo, o caldo Rappaport-Vassiliadis e o caldo Tetrionato-Novobiocina, e incubadas a 37° e 42 °C, respectivamente por 24 horas. Após esse procedimento, cada amostra será semeada em placas de Petri com ágar verde brilhante e em ágar Hektoen, e novamente incubados a 37 °C por 24 horas. As provas bioquímicas das colônias obtidas serão submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, prova de fermentação, prova da

produção de gás sulfídrico, prova do vermelho de metila, no ágar lisina ferro e ágar tríplice açúcar ferro.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com a de seus colegas.

Técnicas de análise

Descrição da situação-problema

Seis horas após um lanche na lanchonete (W), um grupo de pessoas apresentou sintomas de cólicas abdominais e diarreia. De acordo com a avaliação da vigilância sanitária, o único alimento ingerido em comum foi um queijo coalho assado, que estava refrigerado a 4 °C e manipulado pelo colaborador do estabelecimento. Segundo o laboratório de análises, o agente causador da doença transmitida ao alimento foi a bactéria *Escherichia coli*. Baseada nessa situação, descreva as técnicas para a detecção microbiológica usadas.



Lembre-se

Os coliformes termotolerantes constituem um grupo de enterobactérias capazes de fermentar a lactose a 45 °C com produção de gás e ácido. Altas contagens de coliformes termotolerantes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e a possibilidade de microrganismos patógenos.

Resolução da situação-problema

A técnica do número mais provável consiste no exame de uma série de tubos, nos quais foram inoculados volumes diferentes de amostra. O valor obtido resulta da consulta da tabela que foram estimuladas com base em fórmulas de probabilidade. A técnica utilizada se divide em três etapas, uma prova presuntiva para coliformes totais, seguida de outra prova confirmativa para coliformes totais e outra confirmativa para coliformes termotolerantes. Pesou-se 25 g de queijo coalho, os quais foram adicionados em 225 mL de água salina peptonada 0,1% e homogeneizados por cerca de um minuto, obteve-se uma diluição 10-1. Prova Presuntiva: inoculou-se 1 mL da diluição inicial em uma série de 3 tubos contendo caldo Lauril Sulfato de Sódio (LSS). A solução 10-2 foi obtida por diluição em água peptonada 0,1% e, foi realizado o mesmo procedimento para a obter a solução 10-3. Inoculou-se as duas diluições em séries de 3 tubos de ensaio contendo o caldo LSS, uma série para cada. Os tubos

foram incubados a 36 °C por período de 24 a 48 horas. Prova confirmativa para coliformes totais: transferiu-se uma alíquota de resultado positivo para tubo com caldo VBV e incubou-o por 36 °C por período de 24-48 horas. Prova confirmativa para coliformes termotolerantes: transferiu-se uma alíquota de resultado positivo para o tubo com caldo EC e incubou-o a 45 °C por 24 – 48h. Após 24 horas foram realizadas as leituras, e por meio da tabela é estabelecido o valor do número mais provável / grama.



Faça você mesmo

Com base nesta situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. A técnica de microscopia de alimentos é uma técnica microanalítica utilizada no controle de qualidade de alimentos. Assinale a alternativa correta que corresponde aos objetivos dessa técnica:

- a) Identificar os componentes do produto, a pureza do produtos, a presença de corpo estranho e as sujidades.
- b) Identificar os componentes do produto, a pureza do produto, a quantificação de coliformes totais e as sujidades.
- c) Identificar os componentes do produto, a quantificação de coliformes totais, a assepsia do produto e a presença de corpo estranho
- d) Identificar os componentes do produto, a assepsia do produto, a esterilização da amostra e as sujidades
- e) Identificar a assepsia do produto, as sujidades, a esterilização e a presença de coliformes totais.

2. A denominação clássica de coliformes fecais foi alterada para coliformes a 45 °C. O Ministério da Saúde, por meio da Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), adotou a denominação coliformes a 45 °C. Assinale a alternativa da melhor técnica de análise para a quantificação destes:

- a) Método de contagem em placas.
- b) Método de turbidimetria.
- c) Método de diluições em placas.

- d) Método da filtração.
- e) Método do número mais provável (NMP).

3. A Resolução n. 14, de 28 de março de 2014 (Anvisa) dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Qual equipamento utilizado na técnica de microscopia de alimentos? Assinale a alternativa correta:

- a) Centrífuga de alta rotação.
- b) Microscópio óptico.
- c) Microscópio eletrônico de varredura.
- d) Difração de raios X.
- e) Calorimetria diferencial de varredura.

Seção 3.4

Técnicas de análise microbiológica em alimentos II

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à quarta seção da terceira unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora você continuará seus estudos sobre técnicas de análise microbiológica em alimentos, e aprenderá nesta seção sobre análise parasitológica de hortaliças, análise micro e macroscópica de especiarias e emissão de laudo de análise parasitológica, micro e macroscópica de alimentos.

Vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no “Convite ao estudo”, que visa aproximar os conteúdos teóricos com a prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação de realidade que se passa em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) de uma empresa, onde ocorreu um caso de surto alimentar. O quarto grupo descreverá as técnicas parasitológicas pertinentes à ocasião do fato.

Analisando a situação, você consegue imaginar quantas questões relacionadas a técnicas de análise microbiológica em alimentos estão envolvidas nesse cenário? Sendo assim, em cada seção desta unidade, você aprenderá os principais temas que envolvem as DTA que te levarão a resolver e a compreender cada questionamento da situação.

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar técnicas de análise microbiológica em alimentos? Como pôde perceber na situação de realidade apresentada no “Convite ao estudo” que, durante nossos trabalhos, lidamos constantemente com as mais diversas situações de contato com pessoas, lugares e equipamentos e todas essas situações compartilhadas com microrganismos. Sendo assim, conhecer e

compreender os recursos técnicos de análise microbiológica dos alimentos é de fundamental importância para a área de Ciência da Saúde. Além disso, ao final desta seção do livro didático, você será capaz de realizar um checklist das técnicas de análise microbiológica dos alimentos.

A análise microscópica nos alimentos tem como objetivo a identificação dos elementos histológicos dos vegetais, sejam eles componentes ou não do produto (análise histológica), e a pesquisa (isolamento e identificação) de matérias estranhas presentes nos alimentos (ácaros, insetos e seus fragmentos, pelos animais, parasitas, partículas metálicas, fungos e outras). A análise histológica visa garantir ao consumidor a aquisição de produtos alimentícios que contenham os ingredientes declarados na rotulagem e estejam de acordo com a legislação, incluindo os Regulamentos Técnicos Específicos dos produtos.

A presença de matéria estranha reflete as condições e as práticas de higiene utilizadas em todas as etapas do processamento do produto alimentício, incluindo também o ponto de venda. As informações obtidas nesse tipo de análise indicam os pontos críticos em que as práticas higiênico-sanitárias deverão ser melhoradas. As matérias prejudiciais à saúde humana são aquelas que de algum modo poderão veicular doença pelo consumo do alimento, e são as que recebem maior importância frente à atual legislação nacional.

É importante salientar que pela análise histológica pode-se chegar à composição qualitativa de produtos que utilizam como ingredientes vegetais, utilizando como ferramenta básica o microscópio e reagentes pouco dispendiosos e de fácil aquisição. Na análise histológica também se verifica a fraude em alimentos, que é a substituição total ou parcial de um componente por outro de qualidade inferior. Essa verificação é de interesse do ponto de vista de fiscalização dos alimentos. Não só o consumidor, mas também a indústria de alimentos pode ser prejudicada quando não se realiza a análise microscópica dos alimentos. No caso de compra de matéria-prima fraudada, isso faz com que o produto seja condenado como **impróprio ao consumo**, por estar em desacordo com a lista de ingredientes da rotulagem, ou por não conter o corte histológico pertinente daquele produto.

A **análise parasitológica de hortaliças e as análises micro e macroscópica de especiarias** foram estudadas na Seção 3.3 deste livro didático, assim como seus respectivos procedimentos de análise. Desse modo, vamos estudar os **procedimentos laboratoriais de análise micro e macroscópica de alimentos**, os quais consistem em: preparo das amostras, hidratação, desengorduramento, clareamento, hidrólise alcalina, filtração, preparo de lâminas e identificação histológica.

Preparo das amostras: as amostras são preparadas de formas diferentes e de acordo com sua matriz. Folhas e pedaços grandes são cortados com uma

lâmina. Material muito seco e quebradiço, utiliza-se imersão em água fria, por um determinado tempo, para intumescimento, não é aconselhada para amiláceos. No caso de tecidos leves, recomenda-se imersão em solução concentrada de álcool, provocando enrijecimento do material que facilita o corte. Amostras pulverizadas são trituradas em almofariz para redução da partícula e, por fim, peneiradas para obter o máximo de homogeneização da amostra.

Hidratação: recomendada para produtos secos, com a finalidade de provocar intumescimento da matriz e facilitar o corte. Deve-se deixar a amostra em contato com água fervente entre cinco a 15 minutos.

Desengorduramento: utiliza-se éter e álcool etílico para alimentos gordurosos e resinosos, com a finalidade de facilitar o corte.

Clareamento: utilizado para vegetais em folhas, frutos e sementes como os condimentos, vegetais para infusos, entre outros, especialmente quando se apresentam moídos. Utilizam-se soluções de hipoclorito de sódio (NaCl) a 2%, fenol a 1%, hidratos de cloral. A amostra é imersa em solução clareadora por cinco minutos, em seguida é lavada com água, e, posteriormente, montadas com água ou glicerina para observação no microscópio.

Hidrólise alcalina: utiliza-se solução de hidróxido de sódio a 3% (NaOH) para produtos com grande quantidade de amido.

Filtração: após o preparo, a amostra é filtrada em papel de filtro qualitativo, em funil de Buchner e bomba de vácuo.

Preparo de lâminas: realizado com ajuda de uma espátula, são retiradas pequenas porções do material retido no papel de filtro e preparadas lâminas com água filtrada, água glicerinada a 2% ou solução de lugol, como meio de montagem, e cobertas com lamínula.

Identificação histológica: o material da lâmina deve ser observado em microscópio biológico com aumento de 100 a 400 vezes. Na lâmina, são visualizados constituintes espalhados no campo, que são identificados pela comparação com padrões vegetais, desenhos ou fotomicrografias existentes em literaturas especializadas.



Pesquise mais

Saiba mais sobre o preparo das amostras para análise parasitológica micro e macroscópicas de hortaliças e especiarias. Disponível em: <<http://paginapessoal.utfpr.edu.br/geraldo/microscopia-de-alimentos/microscopiaalimentos.pdf/view>>. Acesso em: 14 jul. 2016.



Assimile

Na análise histológica, também se verifica a fraude em alimentos, que é a substituição total ou parcial de um componente por outro de qualidade inferior. Essa verificação é de interesse do ponto de vista de fiscalização dos alimentos. Não só o consumidor, mas também a indústria de alimentos pode ser prejudicada quando não se realiza a análise microscópica dos alimentos.

O **isolamento e a identificação de matérias estranhas** de um alimento ou produto alimentício são realizados primeiramente com métodos macroanalíticos, que utilizam os sentidos (visão, olfato) com auxílio de alguns utensílios e equipamentos para otimizar o isolamento. Após essa primeira inspeção, se nada for encontrado, segue-se os métodos microanalíticos de isolamento. Para tanto, devemos saber algumas definições: **Matéria estranha** - qualquer material diferente, não pertencente ao alimento, que possa estar nele contido, devido à ocorrência anormal ou de condições e práticas inadequadas durante a fase de produção, armazenagem ou distribuição (ex.: areia, vidro, sujidades, matéria em decomposição); **Sujidades** - qualquer elemento estranho ao produto, proveniente de contaminação animal (ex.: roedores, insetos ou pássaros, larvas de insetos, asa de inseto).

Métodos macroanalíticos: são utilizados os sentidos (visão, olfato ou paladar) para direcionar a inspeção de uma determinada amostra. O analista separa a avaria e, utilizando equipamentos de aumento de baixa magnitude, pode confirmar ou descrevê-la detalhadamente. Vantagens: são baratos e requerem poucos equipamentos especializados. Deve-se ressaltar que esse método não dá a amplitude de resposta necessária em todas as situações, devendo-se buscar a aplicação de métodos microanalíticos. Exemplos de métodos macroanalíticos: infestação de insetos, contaminação por roedor, excremento de roedores, presença de babas, escavações, roeduras na superfície do alimento, fragmento de ossos, plásticos e partículas metálicas.

Métodos microanalíticos: envolvem exames detalhados de uma pequena porção da amostra. Por esse método são identificadas avarias não evidentes, entretanto, estes possuem suas limitações: são mais caros, possuem marchas analíticas longas e requerem equipamentos mais especializados. Os métodos micro e macroanalíticos tendem a se complementar e juntos dão uma melhor avaliação das avarias encontradas no produto. Esses métodos são divididos em três etapas: **Pré-tratamento** - ocorre a preparação do produto para a extração; **Extração** - ocorre a separação da sujidade num sistema água/óleo do produto; **Recuperação** - ocorre a filtração em papel riscado e exame do papel no microscópio.

A Resolução n. 14, de 28 de março de 2014 (Anvisa), também vista na Seção 3.3

deste livro didático, dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências, e serve de base para os testes parasitológicos, micro e macroscópicos de alimentos, o que irá contribuir para a conclusão dos resultados dos laudos de análise.



Pesquise mais

Conheça a Resolução RDC n. 14 de 28 de março de 2014 da Anvisa, que dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/media/resANVISA%2014-2014.pdf>>. Acesso em: 13 jul. 2016.

Os laudos de análise baseiam-se na legislação vigente do alimento, a qual possui as suas especificações, e se torna peça fundamental na conclusão da análise, podendo esse ser classificado como próprio ou impróprio para o consumo.



Exemplificando

Com relação às infecções parasitárias, a *Entamoeba histolytica*, protozoário responsável pela amebíase, causa diarreia grave e é transmitida por meio da ingestão de cistos presentes na água ou alimentos contaminados.



Refleta

A técnica de microscopia de alimentos é uma técnica microanalítica utilizada no controle de qualidade de alimentos, com os objetivos de identificar os componentes de produtos, permitindo constatar se esses produtos estão de acordo com as especificações da legislação vigente. Além disso, essa análise permite verificar a designação correta do produto no rótulo, a pureza dos produtos, ou se houve caso de adulteração, presença de corpo estranho e sujidades.

Nesta seção, você reforçou o aprendizado sobre análise parasitológica de hortaliças e análise micro e macroscópica de especiarias, laudo de análise parasitológica e micro e macroscópica de alimentos, conheceu e compreendeu os recursos técnicos de análise microbiológica dos alimentos, e é capaz de realizar um checklist das técnicas de análise microbiológica dos alimentos. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre técnicas de análise microbiológica em alimentos vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no “Diálogo aberto” sobre o caso que se passou numa UAN de uma empresa. O quarto grupo descreverá as técnicas parasitológicas pertinentes à ocasião do fato.



Atenção

O isolamento e a identificação de matérias estranhas de um alimento ou produto alimentício é realizado primeiramente com método macroanalítico que utiliza os sentidos (visão, olfato) com auxílio de alguns utensílios e equipamentos para otimizar o isolamento. Após essa primeira inspeção, se nada for encontrado, seguem-se os métodos microanalíticos de isolamento.

Pensando no cenário exposto na situação-problema, que foi a quebra de conduta com relação às condições higiênico-sanitárias, obrigatória por lei para qualquer estabelecimento comercial onde há a manipulação, a comercialização e o armazenamento de alimentos. Para as análises parasitológicas das pessoas suspeitas nos manipuladores dos alimentos, foram realizadas coproculturas, que indicaram a presença de microrganismos do gênero *Salmonella*. A partir dessa avaliação, houve a confirmação da contaminação cruzada do alimento por parte dos manipuladores. Para a análise microbiológica, deve-se coletar, assepticamente, de cada amostra suspeita 25 g, os quais serão transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 1%, estéril e homogeneizados. Essa diluição (inicial) é de 1:10 ou 10^{-1} , em que em 10 g do homogeneizado estéril contém 1 grama da amostra. A partir da diluição inicial, é realizada a diluição seriada de 10^{-2} e 10^{-3} , mantendo sempre o mesmo diluente. Estas diluições serão usadas nos testes de identificação. Após isso, a amostra contida na água salina peptonada deve ser incubada a 37 °C por 24 horas, e as amostras transferidas para dois tipos diferentes de caldos de enriquecimento seletivo, o caldo Rappaport-Vassiliadis e o caldo Tetrationato-Novobiocina, e incubadas a 37° e 42 °C, respectivamente por 24 horas. Após esse procedimento cada amostra será semeada em placas de Petri com ágar verde brilhante e em ágar Hektoen, e novamente incubados a 37 °C por 24 horas. As provas bioquímicas das colônias obtidas serão submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, prova de fermentação, prova da produção de gás sulfídrico, prova do vermelho de metila, no ágar lisina ferro e ágar tríplice açúcar ferro.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com a de seus colegas.

Hortalças contaminadas

Descrição da situação-problema

Agentes da vigilância sanitária avaliaram a contaminação por enteroparasitas em hortalças prontas para o consumo, servidas em restaurantes *self-service* por quilo da cidade de São Paulo. Foram analisadas 50 amostras. Dentre todas as hortalças analisadas, 10% (5 amostras) apresentaram-se contaminadas por estruturas parasitárias. Os parasitas encontrados foram: *Iodamoeba butschlii* (4%), *Entamoeba histolytica* (2%), *Fasciola hepática* (2%) e *Trichocephalus trichiurus* (2%), sendo a maioria de importância com relação à saúde pública por apresentarem patogenicidade ao homem. Descreva as técnicas parasitológicas utilizadas para a análise das hortalças em questão.



Lembre-se

Os procedimentos laboratoriais de análise micro e macroscópica de alimentos consistem em: preparo das amostras, hidratação, desengorduramento, clareamento, hidrólise alcalina, filtração, preparo de lâminas e identificação histológica.

Resolução da situação-problema

Esses resultados indicam que as alfaces provindas de restaurantes podem apresentar padrão de qualidade higiênico-sanitária inadequado, o que salienta a necessidade de maior orientação aos produtores e aos manipuladores quanto à correta manipulação e higienização das hortalças, reduzindo, dessa forma, doenças parasitárias veiculadas por alimentos. Na análise parasitológica, deverão ser utilizados as partes das hortalças que são mais propícias à contaminação pelas parasitárias, preferencialmente àquelas de contato direto com o solo. Procedimentos: 1. Pesar as folhas e dividi-las em 2 grupos de pesos iguais; 2. Colocar as folhas, do grupo 1, em bandejas com 1000 mL de água destilada para serem desfolhadas e higienizadas; 3. Colocar as folhas, do grupo 2, em bandejas com 1000 mL de solução de Hipoclorito de Sódio (NaCl) 10%, recém-preparada, para serem desfolhadas e higienizadas; 4. Lavar as folhas do grupo 1 e do grupo 2 com auxílio de pincéis; 5. Filtrar o líquido em gaze vertendo-o num cálice cônico graduado, e deixá-lo sedimentar por 24 horas; 6. Após total sedimentação,

descarta-se o sobrenadante; 7. Retire 0,1 mL de sedimento (com auxílio de uma pipeta Pasteur) e coloque entre lâmina e lamínula corada com lugol; 7. Examinar no microscópio óptico com objetivas de 10x e 40x.; 8. Diluir o sedimento restante em tubos de 15 mL, ressuspendê-lo em solução de sulfato de zinco (ZnSO_4) a 33%; 9. Submeter a suspensão ao método de centrífugo-flutuação de Faust, em seguida, coletar o material flutuado, e examinar ao microscópio óptico nas mesmas condições que as anteriores, procurar por larvas e cistos comparando-os com a literatura para posterior identificação.



Faça você mesmo

Caro aluno, até esta etapa de seus estudos, você já obteve o conhecimento da vigilância sanitária de alimentos, das infecções intestinais causadas por enterobactérias, parasitoses e fungos, das técnicas de análise microbiológica em alimentos. Elabore um checklist das técnicas de análise microbiológica dos alimentos. Para isso, é importante que você realize uma revisão das quatro seções da Unidade 3.

Boa sorte!

Faça valer a pena

1. A análise microscópica nos alimentos tem como objetivo a identificação dos elementos histológicos dos vegetais, sejam eles componentes ou não do produto (análise histológica), e a pesquisa (isolamento e identificação) de matérias estranhas presentes nos alimentos (ácaros, insetos e seus fragmentos, pelos animais, parasitas, partículas metálicas, fungos e outras). Assinale a alternativa correta que corresponde ao uso de equipamento fundamental para esse tipo de análise:

- a) Difrátômetro de raios X.
- b) Microscópio óptico.
- c) Centrífuga de alta rotação.
- d) Espectrofotômetro.
- e) Refratômetro.

2. Com relação às infecções parasitárias, a *Entamoeba histolytica*, protozoário responsável pela amebíase, causa diarreia grave e é transmitida por meio da ingestão de cistos presentes na água ou

alimentos contaminados. Por meio de qual técnica de análise os cistos desse parasita são detectados nos alimentos? Assinale a alternativa correta:

- a) Método de coloração de Gram.
- b) Método de coprocultura.
- c) Método macroanalíticos (visão).
- d) Método microanalíticos parasitológico (centrífugo-flutuação de Faust).
- e) Método do número mais provável (NMP).

3. O isolamento e a identificação de matérias estranhas de um alimento ou produto alimentício é realizado primeiramente com método macroanalítico. Assinale a alternativa correta com relação ao método em questão:

- a) Nos métodos macroanalíticos são utilizados os sentidos (visão, olfato ou paladar) para direcionar a inspeção de uma determinada amostra.
- b) Métodos macroanalíticos envolvem exames detalhados de uma pequena porção da amostra.
- c) Métodos macroanalíticos consistem no exame de uma série de tubos nos quais foram inoculados volumes diferentes de amostra.
- d) Métodos macroanalíticos baseiam-se na produção de gás a partir da lactose pelos microrganismos presentes na amostra. O meio de enriquecimento utilizado é o caldo Lauryl Sulfato Tryptose.
- e) Métodos macroanalíticos baseiam-se na produção de gás a partir da lactose pelos microrganismos presentes na amostra. O meio seletivo caldo lactosado - bile verde brilhante (BVB).

Referências

BRASIL, **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimento**. Resolução - CNNPA n. 12, de 1978 - Anvisa. D.O., de 24 de julho de 1978. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78.htm>. Acesso em: 19 ago. 2016.

CAPUANO, D. M. et al. Enteroparasitoses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto - SP, Brasil, 2000. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 687-695, Dec. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2008000400015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 26 jun. 2016.

ESTEVES, F. A. M.; FIGUEIRÔA, E. O. Detecção de enteroparasitas em hortaliças comercializadas em feiras livres do município de Caruaru (PE). **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 33, n. 2, p. 184, 2012. Disponível em: <<http://inseer.ibict.br/rbsp/index.php/rbsp/article/view/204>>. Acesso em: 5 jul. 2016.

JUNIOR, J. P.; GONTIJO, E. E. L.; SILVA, M. G. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi- TO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v. 5, n. 1, pub. 2, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.itpac.br/arquivos/Revista/51/2.pdf>>. Acesso em: 6 jul. 2016

MANUAL integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos/Ministério da Saúde. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos>. Acesso em: 11 jul. 2016.

OLIVEIRA, A. B. A. et al. Doenças transmitidas por alimentos: principais agentes etiológicos, alimentos envolvidos e fatores predisponentes. **Clinical & Biomedical Research**, Porto Alegre, v. 30, n. 3. Disponível em: <<http://www.seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/16422/9805>>. Acesso em: 16 jun. 2016.

PRADO, S. P. T. et al. Contaminação por matérias estranhas e microrganismos em farináceos comercializados em Ribeirão Preto - SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** (Impr.) [on-line]. 2005, v. 64, n. 2, p. 237-244. ISSN 0073-9855. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552005000200015&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 16 jul. 2016.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela. 2010.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela. 2014.

Doenças não relacionadas a alimentos

Convite ao estudo

Por que estudar doenças não relacionadas a alimentos? As áreas de aplicação da microbiologia geral compreendem vários setores, que se relacionam, por sua importância, à medicina, à indústria, à agricultura, à fitopatologia, à virologia, à micologia e à bacteriologia. Nesta unidade, estudaremos os três últimos setores supracitados. No setor da virologia, o estudo estabelece a diferenciação dos vírus como forma microbiana, suas características e suas particularidades de multiplicação em células vivas. No setor da micologia, o estudo nos permite constatar o imenso mundo dos mofo e leveduras e compreender suas complexas participações nos mais diversos tipos de atividade. No setor da bacteriologia, o estudo nos oferece a observação da conduta bacteriana permitindo sua eliminação quando esta for inconveniente, ou aproveitá-la nos casos em que sua participação oferecer vantagens.

Nesta unidade vamos conhecer os conceitos gerais sobre as doenças não relacionadas a alimentos, abordando as doenças bacterianas e suas formas de diagnóstico, assim como as doenças virais e fúngicas, e suas formas de diagnóstico.

Competência geral:

Conhecer a relação entre a microbiologia e a conservação dos alimentos.

Competência técnica:

Conhecer as principais doenças microbianas e compreender os meios de diagnóstico.

Objetivos:

- Doenças bacterianas.
- Diagnóstico de doenças bacterianas.

- Doenças virais e fúngicas.
- Diagnósticos de doenças virais e fúngicas.

A fim de auxiliar no desenvolvimento da competência mencionada e atender aos objetivos específicos do tema em questão, doenças não relacionadas a alimentos, a seguir, será apresentada uma situação hipotética que visa aproximar os conteúdos teóricos com a prática.

Em um curso de graduação, a professora dividiu a classe em quatro grupos de sete alunos e solicitou um trabalho sobre o tema doenças não relacionadas a alimentos. Neste trabalho, os grupos deverão analisar e resolver situações que se passam em uma unidade de alimentação e nutrição (UAN) de uma empresa. Na atual situação, três colaboradores foram afastados por motivos de saúde. O primeiro colaborador, João, apresentou sintomas como linfonodos aumentados, fadiga, febre, perda de apetite e suor noturno, os exames laboratoriais confirmaram a presença da bactéria patogênica *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*), cuja transmissão se dá por meio da tosse, espirro ou expectoração de pessoas infectadas. Já o colaborador Pedro apresentou sintomas como febre, dor de garganta, vômitos, dores abdominais. Os exames laboratoriais confirmaram a infecção por vírus *Coxsackie* do grupo A, o responsável pela “Gripe de verão”, com transmissão por meio de expectoração de pessoas e espirros. E o colaborador Bruno apresentou lesões no corpo, caracterizadas por bordas bem definidas, avermelhadas, descamativas, em forma anelar, apresentando prurido (coceira) local, que se estendia para as unhas. Os exames laboratoriais confirmaram a presença do fungo *Trichophyton rubrum*, que causa lesão nas unhas, pés e virilha, sendo transmitido por contato direto entre pessoas infectadas e sãs. Mediante essa situação, o profissional responsável pela UAN afastou os colaboradores para tratamento, visando impedir a transmissão desses microrganismos aos demais.

Cada grupo de alunos deverá analisar a situação e discutir um determinado aspecto do caso. O primeiro grupo deverá descrever as características epidemiológicas, fatores de virulência e tratamento da micobactéria em questão. O segundo grupo ficará responsável por apresentar o diagnóstico microbiológico da bactéria patogênica *Mycobacterium tuberculosis*. O terceiro grupo deverá descrever as características das infecções pelo vírus *Coxsackie* e pelo fungo *Trichophyton rubrum*, e destacar os principais vírus e fungos patógenos. E por fim, o quarto grupo descreverá os meios para diagnosticar o vírus e

o fungo em questão.

Você consegue imaginar quantas questões envolvidas com as doenças não relacionadas a alimentos são apresentadas nesse cenário? No estudo de cada seção desta unidade você aprenderá sobre os principais temas que as envolvem, e como essas doenças afetam a saúde do manipulador de alimentos, e isso auxiliará a resolver e compreender cada questionamento da situação.

Mãos à obra e boa sorte nos estudos!

Seção 4.1

Doenças bacterianas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à primeira seção da quarta unidade de estudos deste livro didático! A partir de agora, você iniciará seus estudos sobre doenças não relacionadas a alimentos. Aprenderá, nesta seção, sobre doenças bacterianas, suas características morfológicas, metabólicas e fatores de virulência, e sobre a epidemiologia e o tratamento das doenças causadas pelos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*).

Agora, vamos relembra a situação hipotética que foi apresentada no "Convite ao estudo", que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela, foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de "Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos" analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação-problema que se passa em uma UAN de uma empresa, da qual três colaboradores foram afastados por motivo de saúde. O primeiro grupo deverá descrever as características epidemiológicas, fatores de virulência e tratamento da micobactéria em questão.

Para que você consiga responder a esses e a outros questionamentos sobre a conduta ideal dos manipuladores de alimentos, serão apresentadas, de forma contextualizada, no tópico "Não pode faltar", as regras e normas de conduta e as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar dos comensais e garantir a segurança alimentar.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar doenças bacterianas? Como pôde perceber na situação-problema apresentada no "Convite ao estudo", um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho. Ao passo que um organismo saudável leva à maior atenção e melhor concentração, portanto, a um menor risco de acidente de trabalho.

A **Organização Mundial de Saúde** define a saúde como "o completo bem-estar e pleno desenvolvimento das potencialidades físicas, psicoemocionais e sociais e não só a mera ausência de doença ou enfermidades" (OMS/WHO, 1946). Em qualquer atividade industrial ou comercial, é muito importante que o quadro de colaboradores esteja em plena forma física, para que seu organismo permaneça harmonizado com sua mente e para que, da integração corpo-mente, possa existir um ótimo potencial para o desenvolvimento das atividades no ambiente de trabalho.

Para que os colaboradores se sintam em pleno vigor para a sua função, são necessários certos cuidados para a prevenção, detecção e cura de algumas doenças endêmicas, crônicas ou agudas, que possam prejudicar o indivíduo e comprometer a empresa. Esses cuidados são atividades médico-laboratoriais que preservarão a saúde e a função dos trabalhadores, oferecendo-lhes melhores condições de vida, e estão relacionados a alguns exames laboratoriais importantes, que podem ser vistos no Quadro 4.1.

Quadro 4.1 | Exames laboratoriais importantes

Material	Exames	Objetivos
Fezes	Coprocultura	Pesquisas de portadores de <i>Salmonella sp</i> e <i>Shigella sp</i> .
	Coproparasitológico	Pesquisa de protozoários e helmintos de importância médica.
Sangue	Hemograma	Avaliação geral de funcionários, anemia, alergia, parasitoses, infecções agudas ou crônicas, discrasias sanguíneas.
	VDRL	Pesquisa de sífilis (aguda ou crônica).
Urina	Tipo I	Pesquisa de infecção urinária subclínica.
Cultura de secreção orofaríngea		Somente para colaboradores que apresentarem quadro clínico compatível com infecções bacterianas (ambulatorial).
Cultura de material de dedos		Somente para verificar os resultados em relação à implantação de um método de higienização e antisepsia das mãos.

Fonte: elaborado pelo autor.

Do ponto de vista médico, existe uma importância muito grande quando agentes patogênicos são isolados de processos patológicos (infecciosos) agudos ou crônicos, da região oral, faríngea e nasal. Podemos dividir os microrganismos constituindo três tipos de microbiotas (flora): microbiota residente (normal); microbiota transitória e microbiota patogênica. A **microbiota residente** é composta por microrganismos que são habitantes normais de certas regiões do organismo, não causando patogenicidade. Porém, alguns microrganismos desse grupo podem adquirir condições de causar doenças. A **microbiota transitória** é constituída pelos mesmos microrganismos da microbiota patogênica, são chamados transitórios quando estão presentes no organismo, sem causar doença e, a partir do momento em que são isolados de um processo patológico agudo (infecção), passam a se chamar **microbiota patogênica**.

Vamos, agora, estudar algumas das características morfológicas, metabólicas e fatores de virulência, epidemiologia e tratamento das doenças causadas pelos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium leprae*.

Staphylococcus – morfologia e metabolismo: são Gram +, cocos imóveis sem esporos, esporos aeróbios ou facultativamente anaeróbios. São coagulase positivos, fermentam manitol, crescem bem em meio com 10% de sal. Produzem lipase e hemolisina. **Fatores de virulência:** enterotoxinas A, B, C, D, E ou F alfa-toxina/alfa-hemolisina, é uma hemolisina com capacidade de formar poros na membrana celular dos leucócitos, promovendo saída do conteúdo da célula, com a sua morte. Além disso, essa ruptura da membrana pode liberar citocinas que contribuem para o desenvolvimento do choque séptico. Outras hemolisinas (que provocam lise de hemácias): beta, gama e delta. **Epidemiologia:** podem ser encontrados em secreções nasais ou da garganta, mãos e pele, cortes infectados, ferimentos, queimaduras, bolhas, espinhas, fezes. Geralmente as vias aéreas superiores do homem são o reservatório primário. Úbere com mastite em vacas e cabras. Tecido lesado de aves. No caso de alimentos, estes são contaminados após o cozimento. O **tratamento da doença** consiste no uso de antibióticos, terapia que pode ser feita com penicilina resistente à betalactamase, por exemplo, nafcilina ou cloxacilina, algumas cefalosporinas ou vancomicina.



Exemplificando

Em certos países, a presença de *Staphylococcus aureus* na região nasal de um indivíduo é condição impeditiva para sua contratação como manipulador de alimentos, fato este que não ocorre na legislação brasileira.

***Streptococcus* – morfologia e metabolismo:** são gêneros de bactérias em forma de cocos. Suas dimensões variam de 0,6 a 1 µm, são Gram +, e coradas pela técnica de Gram em que assumem a coloração roxa. São imóveis, pois não possuem órgãos de locomoção (flagelo). Não produzem catalase e são oxidase negativas, produtoras de ácido láctico. A maioria das espécies é anaeróbia facultativa e algumas crescem na presença de CO₂. **Fatores de virulência:** classificam-se pela a capacidade de provocar lise (morte celular) em eritrócitos de alfa (hemólise completa), beta (hemólise total) ou gama (sem hemólise). Os antígenos, formados por polissacarídeos e carboidratos, localizam-se na parede celular (grupos: A, B, C, E, F, G, H e K). Nos grupos D e N, esses antígenos são ácidos teicoicos, e se localizam entre a parede e a membrana celular. Já os grupos B e C contêm a maioria dos estreptococos de importância animal. O grupo A (*Streptococcus pyogenes*) é o mais importante e causa faringite estreptocócica, escarlatina, impetigo (infecção de pele), celulite, fasciite necrotizante e choque séptico. Grupo B (*Streptococcus agalactiae*) provoca meningite em recém-nascidos e infecção associada a diabetes em idosos. *Streptococcus pneumoniae* causam pneumonia. *Streptococcus viridans* causam abscessos dentários ou endocardites. **Epidemiologia:** esse gênero faz parte da microbiota normal da boca, pelo, intestino ou trato respiratório superior. São passados de pessoa a pessoa por contato direto ou indireto, também são transmitidos por espirros e tosse. São destruídos por detergentes e sabão e não resistem à desidratação. Os animais também desenvolvem infecções causadas por estreptococos, destaque para mastites em bovinos, meningoencefalites em suínos, septicemia em aves e infecções respiratórias em cães e gatos novos. **O tratamento da doença** consiste no uso de penicilina, que é o antibiótico de escolha; no caso de pacientes alérgicos à penicilina, usa-se a eritromicina.



Pesquise mais

Acesse este link para realizar uma leitura complementar a respeito das bactérias do gênero *Streptococcus*. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_streptococcus.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2016.

***Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch (MTB) – morfologia e metabolismo:** apresentam-se como bacilos medindo de 0,2 a 0,6 mm de diâmetro e de 1 a 10 mm de comprimento. São aeróbios estritos, imóveis, não capsulados, não esporulados e têm temperatura de crescimento ótimo entre 35-37 °C. Não produzem pigmentos e a morfologia das colônias se apresenta com aspecto seco, rugoso, de cor creme no crescimento em meio Löwenstein-Jensen. Sua parede celular é constituída por ácidos micólicos, os quais formam uma barreira hidrofóbica, conferindo resistência à dessecação, à descoloração por álcool-ácido, a diversos agentes químicos e a antibióticos. O *M. tuberculosis*

não é corado pelo método de Gram, mesmo assim é considerado como Gram +, devido às características de sua parede celular. É corado pelo método de coloração de Ziehl-Neelsen (visto na Seção 2.3 deste livro didático). Divide-se a cada 15 a 20 horas, considerado lento quando comparado a outras bactérias.

Fatores de virulência: as micobactérias conseguem infectar e se proliferar em macrófagos, não produzem fatores de virulência que expliquem as manifestações clínicas de suas infecções, as quais são decorrentes da resposta do hospedeiro e aos antígenos das micobactérias. As infecções acompanham um quadro de hipersensibilidade tardia e de imunidade celular, que se manifestam ao mesmo tempo e estão associados. Geram infecções que podem durar a vida toda do indivíduo. **Epidemiologia:** *M. tuberculosis* é transmitido por tosse, proveniente de uma pessoa com tuberculose ativa. O microrganismo é extremamente estável nas gotículas (tosse, espirro) e no escarro, consegue permanecer viável por até seis semanas. Quando na gotícula, o microrganismo é inalado e atinge um ambiente altamente aeróbio do pulmão, causando pneumonite não específica. O contágio vai depender da intensidade de contato com o doente (proximidade e ambiente favorável). A virulência da cepa infectante e a quantidade de dose inalada têm muita relevância no estabelecimento da tuberculose. Pode ser transmitida pela ingestão de leite contaminado, que se encontra atualmente incomum devido aos processos de pasteurização e esterilização. O **tratamento da doença** consiste no uso de antibióticos, que possuem princípios ativos menos tóxicos, dentre eles a isoniazida, pirazinamida, rifampicina, estreptomicina e etambutol, canamicina, viomicina, capreomicina e amicacina.



Refleta

Com o propósito de conferir imunidade, no Brasil, a vacina utilizada é a BCG (bacilo de Calmette-Guérin), constituída por uma mutante atenuada do *Mycobacterium bovis*. Ainda que cause infecção no homem, esta não provoca doença e é considerada uma proteção satisfatória.

Mycobacterium leprae – também conhecido como bacilo de Hansen, é classificada como doença degenerativa e causa deformações nos pacientes. Calcula-se que existam 12 milhões de hansenianos (leprosos) no mundo. **Morfologia e metabolismo:** possuem morfologia semelhante ao *M. tuberculosis*, são bacilos retos ou levemente encurvados, com dimensões de 0,3 a 0,6 mm por 4,0 a 7,0 mm. São bacilos álcool-ácidos resistentes. São corados pelo método de coloração de Ziehl-Neelsen. São imóveis e não produzem esporos. Possui temperatura ótima de crescimento a 30 °C. **Fatores de virulência:** o microrganismo é intracelular obrigatório, sendo o homem o único a apresentar a doença, possui afinidade por células cutâneas e por células dos nervos periféricos, confere baixa patogenicidade e alta infectividade. A micobactéria parasita os macrófagos e as **células de Schwann**

que formam a **bainha de mielina** dos nervos periféricos. A destruição da **bainha de mielina** causa a disfunção dos nervos, e consequentemente a pessoa perde o tato.

Epidemiologia: as micobactérias são transmitidas pelo contato direto de pessoas doentes, transferindo os bacilos para o meio, e estes são inalados pelas vias aéreas superiores. O aparecimento da doença (relação parasita/hospedeiro) é de 2-7 anos, afeta todas as idades e ambos os sexos. O **tratamento da doença** específico para a hanseníase, indicado pelo Ministério da Saúde, é a polioquimioterapia (PQT), com a administração de fármacos de rifampicina, dapsona e clofazimina. Esse tratamento deve ser realizado nas unidades de saúde, com dose supervisionada.



Assimile

A *M. leprae*, assim como a *M. tuberculosis*, apresenta crescimento extremamente lento quando comparado com outras bactérias. Ambas são parasitas intracelulares obrigatórios.



Pesquise mais

Acesse este link para realizar uma leitura complementar a respeito das micobactérias. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_streptococcus.pdf>. Acesso em: 2 ago. 2016.

Nesta seção você aprendeu sobre algumas das características morfológicas, metabólicas e fatores de virulência, epidemiologia e tratamento das doenças causadas pelos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium leprae*. A partir de agora, sua responsabilidade social com os colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre doenças bacterianas vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no "Diálogo aberto", sobre o caso dos colaboradores afastados por motivo de saúde, que se passou numa UAN de uma empresa. O primeiro grupo deverá descrever as características epidemiológicas, fatores de virulência e tratamento da micobactéria em questão.



Atenção

A *M. leprae*, assim como a *M. tuberculosis*, apresenta crescimento extremamente lento quando comparado com outras bactérias. Ambas são parasitas intracelulares obrigatórios.

Pensando na situação exposta, vimos um caso de afastamento das atividades dos colaboradores da UAN, não por quebra de conduta, mas sim por motivo de saúde. É sabido que um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho. Ao passo que um organismo saudável leva a uma maior atenção, melhor concentração e, portanto, um menor risco de acidente de trabalho. O colaborador (x) fora afastado pela infecção comprovada por *M. tuberculosis*, também conhecido como Bacilo de Koch. Este microrganismo é transmitido por tosse e espirros. Possui grande estabilidade e viabilidade, e se instalando nos alvéolos pulmonares, causa pneumonite. O contágio depende da intensidade de contato com o doente. Como fator de virulência, o destaque é a infecção e proliferação das micobactérias em macrófagos, que são decorrentes da resposta do hospedeiro aos antígenos das micobactérias. As infecções acompanham um quadro de hipersensibilidade tardia e de imunidade celular, os quais se manifestam ao mesmo tempo e estão associados. O tratamento da doença consiste no uso de antibióticos, que possuem princípios ativos menos tóxicos, dentre eles a isoniazida, pirazinamida, rifampicina, estreptomicina e etambutol, canamicina, viomicina, capreomicina e amicacina.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Contágio

Descrição da situação-problema

Três colaboradores foram afastados por motivo de saúde da empresa (x), pois apresentavam quadro de faringoamigdalite, seguido de febre alta e sinusite. Os exames laboratoriais comprovaram a infecção por *Streptococcus pyogenes*. Os três colaboradores trabalhavam no setor de manipulação de produtos cárneos. Diante dessa situação, o profissional responsável pelo setor afastou os colaboradores para tratamento, por 10 dias, visando impedir a transmissão dos microrganismos aos demais. Aborde as características do microrganismo em questão, mencionando os fatores de virulência, epidemiológicos e os possíveis tratamentos aos quais os colaboradores serão submetidos.



Lembre-se

Para que os colaboradores se sintam em pleno vigor para a sua função, são necessários certos cuidados para a prevenção, detecção e cura de algumas doenças endêmicas, crônicas ou agudas, que possam prejudicar o indivíduo e comprometer a empresa. Esses cuidados são atividades médico-laboratoriais que preservarão a saúde e a função dos trabalhadores, oferecendo-lhes melhores condições de vida.

Resolução da situação-problema

Pensando na situação exposta, vimos um caso de afastamento das atividades dos colaboradores da UAN, não por quebra de conduta, mas sim por motivo de saúde. É sabido que um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho. A virulência desse microrganismo se enquadra no grupo A (*Streptococcus pyogenes*), este é o mais importante e causa faringite estreptocócica, febre, sinusite e, em alguns casos, escarlatina, impetigo (infecção de pele), celulite, fasciíte necrotizante e choque séptico. O perfil epidemiológico desse gênero faz parte da microbiota normal da boca, pelo, intestino ou trato respiratório superior. São passados de pessoa a pessoa por contato direto ou indireto, também são transmitidos por espirros e tosse. O tratamento da doença consiste no uso de penicilina, que é o antibiótico de escolha; no caso de pacientes alérgicos à penicilina, usa-se a eritromicina.



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Do ponto de vista médico, existe uma importância muito grande quando agentes patogênicos são isolados de processos patológicos (infecciosos) agudos ou crônicos, da região oral, faríngea e nasal. Podemos dividir os microrganismos, constituindo três tipos de microbiotas: microbiota residente (normal); microbiota transitória e microbiota patogênica. Assinale a alternativa que melhor define a microbiota residente:

- a) É composta por microrganismos sinérgicos potencialmente patógenos e deve ser excluída do organismo.
- b) É composta por microrganismos que são habitantes normais de certas regiões do organismo, não causando patogenicidade.
- c) É composta por microrganismos patógenos.
- d) É a responsável por causar doenças agudas e crônicas.
- e) É constituída pelos mesmos microrganismos da microbiota patogênica, sem causar doença e, a partir do momento em que são isolados de um processo patológico agudo (infecção), passam a se chamar patógenos.

2. Para que os colaboradores se sintam em pleno vigor para a sua função, são necessários alguns cuidados para a prevenção, detecção e cura de algumas doenças endêmicas, crônicas ou agudas, que possam prejudicar o indivíduo e comprometer a empresa. Esses cuidados são atividades médico-laboratoriais que preservarão a saúde e a função dos trabalhadores, oferecendo-lhes melhores condições de vida. Assinale a alternativa que contenha os principais exames laboratoriais exigidos:

- a) Exames de endoscopia, colonoscopia, sangue e fezes.
- b) Exames de fezes, sangue, urina, ressonância magnética do corpo todo.
- c) Exames de sangue, radiografia de tórax e da barriga, cultura de material de dedos.
- d) Exames de fezes, sangue, urina, cultura de secreção orofaríngea, cultura de material de dedos.
- e) Exame de sangue, urina, fezes, radiografia de tórax.

3. Podem ser encontrados em secreções nasais ou da garganta, mãos e pele, cortes infectados, ferimentos, queimaduras, bolhas, espinhas, fezes. Geralmente as vias aéreas superiores do homem são o reservatório primário. São Gram +, cocos imóveis sem esporos, esporos aeróbios ou facultativamente anaeróbios. São coagulase positivos, fermentam

manitol, crescem bem em meio com 10% de sal. Assinale a alternativa que corresponde ao gênero de microrganismos em questão:

- a) *Mycobacterium bovis*.
- b) *Mycobacterium leprae*.
- c) *Mycobacterium tuberculosis*.
- d) *Staphylococcus*.
- e) *Streptococcus*.

Seção 4.2

Diagnóstico de doenças bacterianas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à segunda seção da quarta unidade de estudos deste livro didático! E para dar continuidade aos estudos sobre doenças não relacionadas a alimentos, nesta seção você terá a oportunidade de aprender quais são os diagnósticos microbiológicos do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus*, e também os diagnósticos microbiológicos da tuberculose e hanseníase.

Agora, vamos relembra a situação hipotética que foi apresentada no *Convite ao estudo*, que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela, foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de “Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos” analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação-problema que se passa em uma UAN de uma empresa, em que três colaboradores foram afastados por motivo de saúde. O segundo grupo ficará responsável por apresentar o diagnóstico microbiológico da bactéria patogênica *Mycobacterium tuberculosis*.

Para que você consiga responder a esses e a outros questionamentos sobre a conduta ideal dos profissionais com responsabilidade técnica nos diversos setores da área da saúde, serão apresentadas, de forma contextualizada, no tópico *Não pode faltar*, as regras e normas de conduta e as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar dos comensais e garantir a segurança alimentar.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar o diagnóstico de doenças bacterianas? Como pôde perceber na situação-problema apresentada no *Convite ao estudo*, da Seção 4.1, um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho. E um organismo saudável leva à maior atenção, à melhor concentração e, portanto, ao

menor risco de acidente de trabalho.

Com a realização dos exames laboratoriais, citados no Quadro 4.1 (Seção 4.1) deste livro didático, o médico pode completar o exame clínico, consciente de que o colaborador da empresa está em condições ótimas para desenvolver a função a que foi destinado dentro da cozinha, ou setor de manipulação, não sofrendo os riscos de um acidente de trabalho, causado por uma parasitose ou por uma infecção subclínica, ou por qualquer alteração que passaria despercebida sem os exames laboratoriais e a consequente avaliação clínica do médico do trabalho. Todos esses cuidados visam preservar a saúde do colaborador e garantir que não ocorram acidentes de trabalho dentro da empresa, ocasionados por doenças que predisõem o indivíduo a graves consequências.

1. Diagnóstico microbiológico do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus*

A identificação desses dois gêneros se baseia na morfologia apresentada em meios líquidos. Os estreptococos se apresentam em cadeia longa e os estafilococos se apresentam na forma de cachos aos pares. A identificação primária ocorre com a inoculação inicial na placa de ágar sangue, meio de cultura bacteriano enriquecido, o qual deve ser incubado em tensão de CO_2 a 5%. As colônias de estafilococos são maiores e convexas, de coloração entre branco-porcelana a amarelo, obtida após incubação de 72h a 25 °C, apresentam hemólise (é uma destruição das hemácias, glóbulos vermelhos, por rompimento da membrana plasmática, resultando na liberação de hemoglobina) ou não. As colônias de estreptococos são menores, com halos de hemólise total ou parcial (beta e alfa hemólise). A diferenciação entre os dois gêneros ocorre na prova da catalase, que é um teste bioquímico utilizado para a identificação de bactérias, após o cultivo.

Prova da catalase – esta prova identifica organismos que produzem a enzima catalase, visto que algumas bactérias produzem peróxido de hidrogênio (H_2O_2) durante a respiração aeróbica. Essa prova é muito útil para distinguir membros da família *Micrococcaceae* (estafilococos) e da família *Streptococcaceae* (estreptococos), além de auxiliar a identificação das espécies de *Mycobacterium*. **Procedimento:** 1. Colete o centro de uma colônia e esfregue-a em lâmina de vidro, com auxílio de uma alça bacteriológica; 2. Coloque sobre o esfregaço uma gota de H_2O_2 a 3% e observe a formação de bolhas, em consequência da decomposição da H_2O_2 em oxigênio (O_2), isso prova que a bactéria em questão possui a enzima catalase. O *S. aureus* (família *Micrococcaceae*) é catalase positivo, enquanto que para a família *Streptococcaceae* é negativa.

Prova da coagulase – os estafilococos se dividem em duas categorias: coagulase positivo e coagulase negativo. A enzima coagulase ligada (ou fator aglutinante) se localiza na parede celular de muitas cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), essas enzimas reagem com o fibrinogênio do plasma provocando a sua coagulação.

Etapas da prova da coagulase em lâmina: 1. Coloque duas gotas de solução salina em uma lâmina; 2. Emulsione uma colônia isolada a ser testada; 3. Coloque uma gota de plasma e misture; 4. Observe se ocorre aglutinação em 10 segundos. **Etapas da prova da coagulase em tubo:** 1. Adicione 0,1 mL de caldo BHI, incubado por 12h, com colônia suspeita a um tubo de ensaio com 0,5 mL de plasma; 2. Incube por 4 horas a 35 °C em estufa ou banho maria; 3. A formação do coágulo é observada pela inclinação suave do tubo de ensaio a 90 graus da vertical.

Teste do crescimento em ágar manitol – o *Staphylococcus aureus* fermenta o manitol em concentração de cloreto de sódio a 7,5%, denominado **Meio de Chapman**. O indicador usado é o vermelho de fenol, resultando em coloração amarela quando positivo e coloração avermelhada quando negativo.

O diagnóstico para o gênero *Streptococcus* é realizado pelo isolamento de cocos Gram positivos com halo de β -hemólise em meio de ágar sangue e identificação das colônias pelos testes de sensibilidade à bacitracina, PYR e teste sorológico.

Teste da bacitracina – para que não ocorram conflitos de resultados, as identificações são realizadas em ágar sangue sem tensão de CO₂. **Procedimento:** 1. Semeie metade da placa de ágar sangue como estreptococo a ser identificado, tal qual um antibiograma; 2. Coloque o disco de bacitracina 0,004 u como indicado; 3. Incube por 12h a 35 °C isento de CO₂; 4. Observe qualquer zona de inibição com resultado de sensibilidade. O *Streptococcus pyogenes* é prontamente identificado.

Teste do PYR – determina a atividade da enzima, produzida pelo *Streptococcus pyogenes* e *Enterococcus sp.*, PYR (pyrrolidonyl-aminopeptidase). Esse teste equivale à prova da hidrólise da bile-esculina e crescimento em 6,5% de NaCl. **Procedimento:** 1. Semeie as provas de Bile-esculina e do caldo de NaCl a 6,5%; 2. Incube-as; 3. O desenvolvimento de cor marrom escura é positivo para bile-esculina; 4. A turvação é positiva para o caldo de NaCl a 6,5%. *Streptococcus* e *Enterococcus* apresentam a bile-esculina positiva. Quanto ao teste da tolerância ao NaCl a 6,5%, somente os *Enterococcus* são positivos.

Teste da solubilidade em bile – identifica o *Streptococcus pneumoniae*, e pode ser executado em caldo. **Procedimento:** 1. Inocule gotas de desoxicolato de sódio a 2% sobre as colônias suspeitas; 2. Incube-as a 35 °C por 30 min.; 3. As colônias positivas irão desaparecer por lise bacteriana.



Assimile

A identificação de estreptococos e estafilococos é baseada na morfologia apresentada em meios líquidos. A identificação primária ocorre com a inoculação inicial na placa de ágar sangue, a qual deve ser incubada em tensão de CO_2 a 5%. A diferenciação entre as duas bactérias ocorre na prova da catalase.

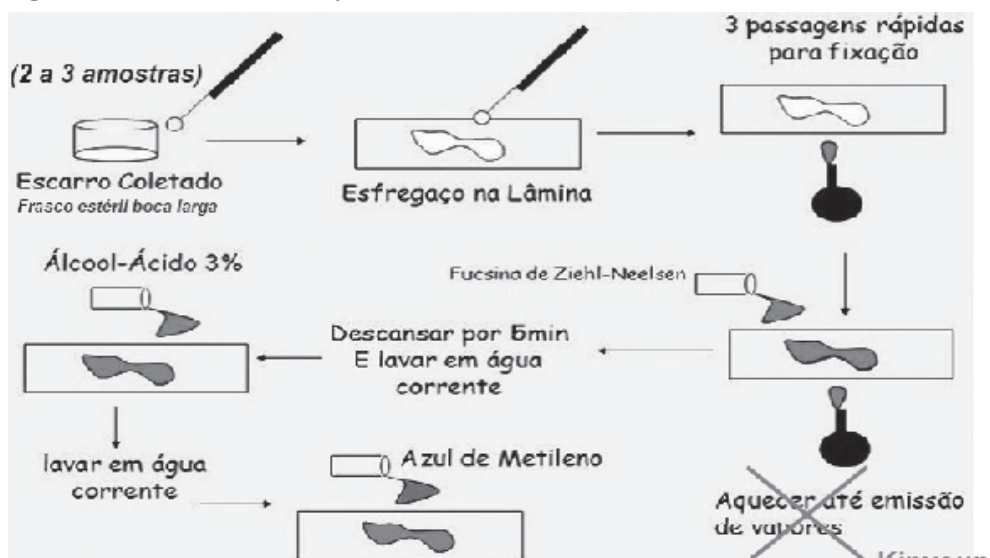
2. Diagnóstico microbiológico da tuberculose e hanseníase

Diagnóstico microbiológico da tuberculose – pode ser feito por meio de dois métodos principais: baciloscopia e cultura.

A **baciloscopia** consiste na pesquisa de **bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR)** em esfregaços de amostra, preparados e corados, provenientes de metodologia padronizada. É o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, principalmente na fase pulmonar. É de execução rápida, fácil e de baixo custo, possui vasta cobertura diagnóstica e identifica a principal fonte de infecção (doentes bacilíferos). Esse exame é realizado para acompanhar a eficácia do tratamento sinalizado pela redução da carga bacilar e negatificação do escarro em exames mensais, enquanto o paciente tiver expectoração. São coletadas duas amostras de escarro de cada paciente, a fim de aumentar a chance de obter um resultado positivo. Para o controle do tratamento, coleta-se apenas uma amostra. As amostras devem ser encaminhadas imediatamente ao laboratório, à temperatura ambiente, protegidas da luz, ou, em caso de demora no envio, as amostras deverão ser mantidas refrigeradas entre 2 e 8 °C, no prazo máximo de 7 dias, ou processadas no local da coleta. O processamento da amostra envolve a preparação e fixação dos esfregaços (coloração de Ziehl-Neelsen).

A **coloração de Ziehl-Neelsen** é o método de escolha para identificação de bactérias do gênero *Mycobacterium*. 1. Fixe o esfregaço na lâmina pelo calor; 2. Cubra o esfregaço com fucsina fenicada; 3. Aqueça as lâminas por 5 minutos até emitirem vapores; 4. Lave-as em água corrente; 5. Faça a descoloração por 90 segundos com solução de álcool-ácido; 6. Lave as lâminas novamente em água corrente; 7. Cubra o esfregaço com azul de metileno durante 30 segundos; 8. Lave a lâmina em água corrente; 9. Deixe secar e observe ao microscópio com a objetiva de imersão. Resultados: bactérias álcool-ácidas resistentes (BAAR): vermelho; bactérias não álcool-ácidas resistentes (BNAAR): azul.

Figura 4.1 | Método de coloração de Ziehl-Neelsen



Fonte: <http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Microbiologia/immunologia/aula_mycobacterium.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

A **cultura** possibilita o isolamento e a multiplicação de BAAR, provenientes da sementeira da amostra em meio de cultivo específico para micobactérias. Os tipos de amostras comumente utilizados no diagnóstico laboratorial da tuberculose pulmonar são: o escarro, o lavado brônquico, o lavado bronco-alveolar, o lavado gástrico e fragmento de tecido pulmonar (biópsia). Já na tuberculose extrapulmonar, são: urina, líquidos pleural, peritoneal e pericárdio, secreções ganglionares e de nódulos mamários, sangue e aspirado de medula.

Esse é o método bacteriológico mais preciso disponível para o diagnóstico dos dois tipos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar. Além disso, o cultivo possibilita a posterior identificação da micobactéria isolada, assim como a prática do teste de sensibilidade. O meio de cultura mais usado é o de **Lowestein-Jensen**, e o crescimento da *M. tuberculosis* ocorre ao redor do vigésimo oitavo dia de incubação, a 37 °C. O limite de detecção é de 10² bacilo/mL.



Exemplificando

A baciloscopia de controle permite avaliar o sucesso ou a falência do tratamento, sendo ideal a sua realização ao final de cada mês de tratamento. Baciloscopia negativa ao final do segundo mês e permanência desta até o final do tratamento demonstra a cura da doença.

Diagnóstico microbiológico da hanseníase – pode ser feito por meio de dois métodos principais: pela baciloscopia e pelo teste de lepromina ou Mitsuda.

A baciloscopia ocorre por meio da **coloração de Ziehl-Neelsen**, tal qual a tuberculose, e as amostras são provenientes de raspados de pele, mucosa nasal ou amostras de biópsia da pele do lobo das orelhas. O teste de lepromina ou Mitsuda se baseia numa injeção intradérmica de lepromina, que provoca uma reação tardia, levando à formação de um nódulo eritematoso infiltrado, alcançando seu desenvolvimento máximo entre 3 a 4 semanas após a injeção intradérmica de lepromina. A lepromina é uma suspensão de tecidos lepromatosos bem triturados em uma solução isotônica de cloreto de sódio, rica em *Mycobacterium leprae* e esterilizada pelo calor. A leitura é realizada após 28 dias da aplicação.



Pesquise mais

Acesse este link para realizar uma leitura complementar a respeito das características e dos diagnósticos microbiológicos das micobactérias. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_mycobacterium.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.



Refleta

A população indígena, os coinfectados TB-HIV, a população em situação de rua e os profissionais de saúde são considerados populações mais vulneráveis para adoecimento por tuberculose. No Brasil, há recomendações específicas para esses grupos populacionais.

Nesta seção você aprendeu sobre o diagnóstico microbiológico do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus*, e também sobre o diagnóstico microbiológico da tuberculose e hanseníase. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre “diagnóstico de doenças bacterianas”, vamos resolver a situação-problema apresentada no *Diálogo aberto* sobre o caso de três colaboradores afastados, por motivo de saúde, ocorrido numa UAN de uma empresa. O segundo grupo, ficará responsável por apresentar o diagnóstico microbiológico da bactéria patogênica *Mycobacterium tuberculosis*.



Atenção

A baciloscopia consiste na pesquisa de bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) em esfregaços de amostra, preparados e corados, provenientes de metodologia padronizada. É o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, principalmente na fase pulmonar.

Pensando na situação exposta, vimos um caso de afastamento das atividades dos colaboradores da UAN, não por quebra de conduta, mas, por motivos de saúde. O diagnóstico microbiológico da tuberculose pode ser feito por meio de dois métodos principais: baciloscopia e cultura. A baciloscopia consiste na pesquisa de bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) em esfregaços de amostra, preparados e corados, provenientes de metodologia padronizada. É o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, principalmente na fase pulmonar. São coletadas duas amostras de escarro do paciente, a fim de aumentar a chance de obter um resultado positivo. A coloração de Ziehl-Neelsen é o método de escolha para a identificação de bactérias do gênero *Mycobacterium*. O teste é realizado conforme o procedimento: 1. Fixação do esfregaço na lâmina pelo calor; 2. Cobertura do esfregaço com fucsina fenicada; 3. Aquecimento das lâminas por 5 minutos até emitirem vapores; 4. Lavagem em água corrente; 5. Descoloração por 90 segundos com solução de álcool-ácido; 6. Lavagem das lâminas novamente em água corrente; 7. Cobertura do esfregaço com azul de metileno durante 30 segundos; 8. Lavagem da lâmina em água corrente; 9. Secagem e observação ao microscópio com a objetiva de imersão. Resultados – bactérias álcool-ácidas resistentes (BAAR): vermelho. Em seguida, faz-se a cultura, que possibilita o isolamento e a multiplicação da BAAR, proveniente da sementeira da amostra, em meio de cultivo específico para micobactérias. O meio de cultura usado é o de Lowestein-Jensen, e o crescimento de *M. tuberculosis* ocorre ao redor do vigésimo oitavo dia de incubação, a 37 °C. O limite de detecção é de 10² bacilo/mL.

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Tuberculose

Descrição da situação-problema

José, 30 anos de idade, solteiro, manipulador de produtos cárneos, apresentou um quadro que teve início há 2 meses, de estado gripal, tosse com expectoração

amarelada e febre. Foi atendido no pronto-socorro, e foi prescrito xarope. José continuou com febre, a tosse agravou, concomitante com perda de peso ao longo dos meses. Ontem à noite, a mãe de José percebeu que ele estava escarrando sangue e marcou a consulta médica. De acordo com os sintomas, suspeita-se de tuberculose. Quais seriam os exames pedidos pelo médico que comprovariam esse diagnóstico? Descreva os procedimentos do exame microbiológico.



Lembre-se

Diagnóstico microbiológico da tuberculose pode ser feito por meio de dois métodos principais: baciloscopia e cultura.

Resolução da situação-problema

O diagnóstico microbiológico da tuberculose pode ser feito por meio de dois métodos principais: baciloscopia e cultura. A baciloscopia consiste na pesquisa de bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) em esfregaços de amostra, preparados e corados, provenientes de metodologia padronizada. É o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, principalmente na fase pulmonar. Para isso, são coletadas duas amostras de escarro do paciente, a fim de aumentar a chance de obter um resultado positivo. A coloração de Ziehl-Neelsen é o método de escolha para a identificação de bactérias do gênero *Mycobacterium*. O teste é realizado conforme o procedimento: 1. Fixação do esfregaço do escarro na lâmina pelo calor; 2. Cobertura do esfregaço com fucsina fenicada; 3. Aquecimento das lâminas por 5 minutos até emitirem vapores; 4. Lavagem em água corrente; 5. Descoloração por 90 segundos com solução de álcool-ácido; 6. Lavagem das lâminas novamente em água corrente; 7. Cobertura do esfregaço com azul de metileno durante 30 segundos; 8. Lavagem da lâmina em água corrente; 9. Secagem e observação ao microscópio com a objetiva de imersão. Resultados – bactérias álcool-ácidas resistentes (BAAR): vermelho. Em seguida, faz-se a cultura, que possibilita o isolamento e a multiplicação de BAAR, provenientes da sementeira da amostra, em meio de cultivo específico para micobactérias. O meio de cultura usado é o de Lowenstein-Jensen, e o crescimento de *M. tuberculosis* ocorre ao redor do vigésimo oitavo dia de incubação, a 37 °C. O limite de detecção é de 102 bacilo/mL.



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que você tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. O principal agente etiológico da hanseníase é o *Mycobacterium leprae*, esse bacilo consegue infectar um grande número de indivíduos, no entanto, poucos adoecem. É uma doença crônica, infectocontagante, atinge pele e nervos periféricos levando a incapacidades físicas. O diagnóstico microbiológico da hanseníase pode ser feito por meio de dois métodos principais.

Assinale a alternativa correta a respeito dos métodos de diagnóstico para a hanseníase:

- a) Baciloscopia e cultura.
- b) Baciloscopia e teste de lepromina ou Mitsuda.
- c) Baciloscopia ou coloração de Gram.
- d) Baciloscopia e prova da coagulase.
- e) Baciloscopia e prova da catalase.

2. No Brasil, a tuberculose é um sério problema da saúde pública, com profundas raízes sociais. A cada ano são notificados aproximadamente 70 mil casos novos e ocorrem 4,6 mil mortes em decorrência da doença. O Brasil ocupa o 17º lugar entre os 22 países responsáveis por 80% do total de casos de tuberculose no Mundo. (Fonte: BRASIL, Portal da Saúde, 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=11045&Itemid=674>. Acesso em: 17 ago. 2016).

Mediante a informação da citação acima, assinale a alternativa correta dos métodos de diagnóstico para tuberculose.

- a) Baciloscopia e cultura.
- b) Baciloscopia e teste de lepromina ou Mitsuda.
- c) Prova da catalase e prova da coagulase.
- d) Baciloscopia e prova da catalase.
- e) Colocaração de Gram e Baciloscopia.

3. A baciloscopia consiste na pesquisa de bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) em esfregaços de amostra, preparados e corados provenientes de metodologia padronizada. É o exame básico para o diagnóstico da tuberculose, principalmente na fase pulmonar. Esse exame é realizado para acompanhar a eficácia do tratamento sinalizado

pela redução da carga bacilar e negativação do escarro em exames mensais, enquanto o paciente tiver expectoração. Assinale a alternativa que indica corretamente a metodologia utilizada na baciloscopia:

- a) Coloração de Gram.
- b) Prova da coagulase.
- c) Prova da catalase.
- d) Coloração de Ziehl-Neelsen.
- e) Coloração de esporos (técnica de Schaeffer-Fulton).

Seção 4.3

Doenças virais e fúngicas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à terceira seção da quarta unidade de estudos deste livro didático! E para dar continuidade aos estudos sobre doenças não relacionadas a alimentos, nesta seção, você será apresentado à virologia e à micologia, e terá a oportunidade de conhecer as doenças virais e fúngicas.

Agora, vamos relembrar a situação hipotética apresentada no "Convite ao estudo", que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de "Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos" analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação-problema que se passa em uma UAN de uma empresa, em que três colaboradores foram afastados por motivo de saúde. O terceiro grupo deverá descrever as características das infecções pelo vírus *Coxsackie* e pelo fungo *Trichophyton rubrum*, e destacar os principais vírus e fungos patógenos.

Para que você consiga responder a esses e a outros questionamentos sobre a conduta ideal dos profissionais com responsabilidade técnica nos diversos setores da área da saúde, serão apresentadas, de forma contextualizada, no tópico "Não pode faltar", as regras e as normas de conduta e as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar dos comensais e garantir a segurança alimentar.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar as doenças virais e fúngicas? Como pôde perceber na situação-problema apresentada no *Convite ao estudo*, da Seção 4.1, um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial

da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho. E um organismo saudável leva à maior atenção, à melhor concentração e, portanto, ao menor risco de acidente de trabalho.

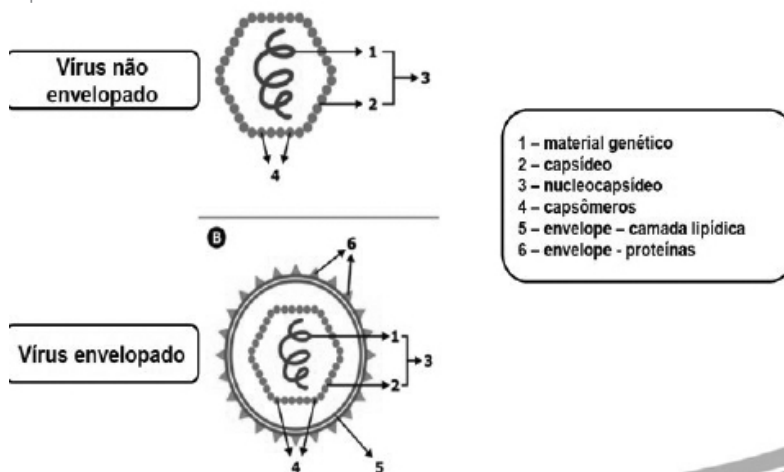
1. Introdução à virologia e viroses humanas

As **características gerais** dos vírus constituem um grupo grande e heterogêneo de agentes infecciosos, semelhantes pelo fato de serem parasitos intracelulares obrigatórios para as células de seus hospedeiros específicos. Esses seres não possuem capacidade de movimentação nem de metabolismo autônomo. Reproduzem-se por replicação numa célula hospedeira, podendo sofrer mutações. Seu estudo requer técnicas muito diferentes das utilizadas para as bactérias e outros microrganismos.

Os vírus são extremamente pequenos e não são visualizados por microscopia óptica, são constituídos por uma cápsula proteica, chamada de capsídeo, a qual contém em seu interior uma molécula de ácido nucleico (DNA ou RNA), envoltas por moléculas de proteínas. Os vírus não possuem origem única, provavelmente evoluíram com seus hospedeiros, e conseguem induzir a síntese de proteínas capazes de transferir o genoma viral, composto de DNA ou RNA viral, para outras células.

A **estrutura dos vírus** é composta por: 1. Genoma ou Núcleo: formada por RNA ou DNA. Por vezes o genoma se encontra envolvido em uma camada de proteínas distinta do capsídeo; 2. Capsídeo: formado por capsômeros. O conjunto de núcleo mais capsídeo é denominado **nucleocapsídeo**; 3. Envelope: formado por glicoproteínas, as quais formam "espículas", que são projeções a partir do envelope. O **vírião** é a partícula viral completa (ácidos nucleicos + capsídeo proteico), serve como veículo na transmissão de um hospedeiro para outro. As estruturas do vírus podem ser visualizadas na Figura 4.2.

Figura 4.2 | Estruturas do vírus

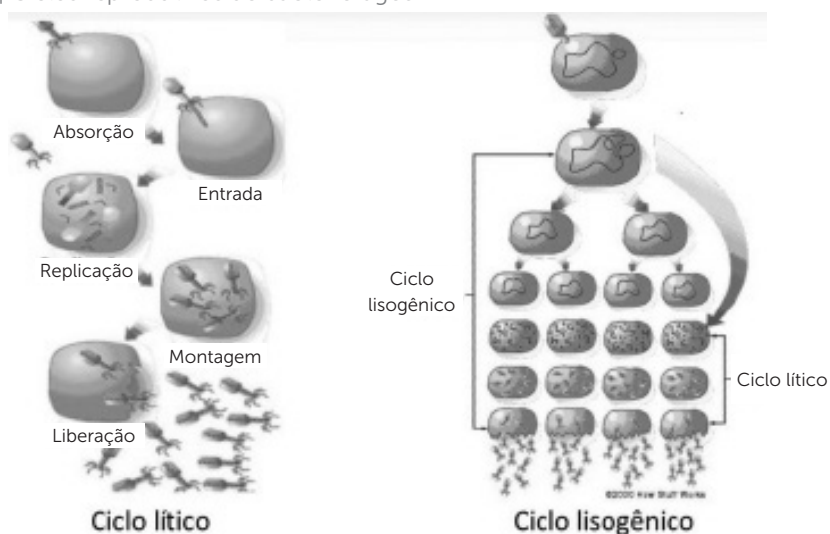


Fonte: <<http://slideplayer.com.br/slide/9860037/>>. Acesso em: 22 ago. 2016.

Os tipos de vírus existentes infectam hospedeiros específicos, pois são as moléculas de proteínas virais que definem qual tipo de célula o vírus irá infectar. Os tipos são: 1. Bacteriófagos (fagos); 2. Micófagos; 3. Vírus de plantas (fitófagos); 4. Vírus de animais; 5. Vírus de protistas.

Os bacteriófagos possuem dois ciclos principais reprodutivos de vida: 1. **Ciclo lítico (virulento)** – este ciclo compreende cinco etapas: a) etapa de adesão; b) penetração do genoma do fago na célula; c) etapa de biossíntese, em que o DNA viral determina a síntese dos componentes virais; d) etapa de maturação, em que novos vírions são montados na célula; e) etapa de liberação dos fagos e lise celular.; 2. **Ciclo lisogênico (avirulento ou temperado)** – compreende três etapas: a) etapa de adesão – é a entrada do genoma do fago na célula bacteriana; b) reprodução – o metabolismo da bactéria **não** é alterado e ela se reproduz normalmente. A cada divisão da célula bacteriana, o DNA viral é transmitido às novas bactérias, sem se manifestar; c) lise celular – sob determinadas condições (radiação ultravioleta, raio X ou certos agentes químicos) o DNA do fago entra no ciclo lítico e destrói a célula hospedeira. Esses ciclos podem ser visualizados na Figura 4.3.

Figura 4.3 | Ciclos reprodutivos de bacteriófagos



Fonte: <<http://slideplayer.com.br/slide/3572409/>>. Acesso em: 23 ago. 2016.



Assimile

Algumas viroses de importância para os humanos – Raiva, AIDS, hepatite, poliomielite (paralisia infantil), herpes, varíola, gripe, caxumba, sarampo, rubéola, febre amarela, dengue, catapora, febres hemorrágicas.



Pesquise mais

Caro aluno, acesse nossa sugestão de leitura sobre vírus. Disponível em:

<<http://www.ufrgs.br/labvir/material/aulat27.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

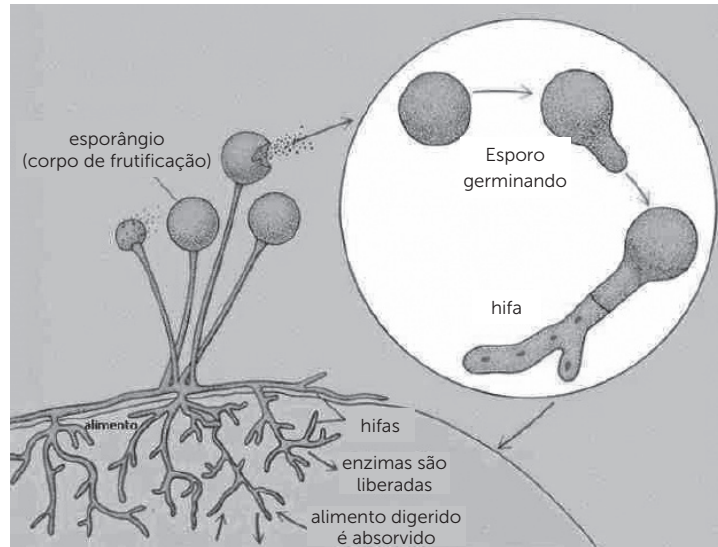
2. Introdução à micologia e doenças fúngicas

Os fungos possuem importância ecológica e econômica, pois conseguem degradar todo tipo de resíduos de matéria orgânica, transformando-os em elementos assimiláveis pelas plantas, que podem ser utilizados em várias áreas como medicina humana e veterinária, farmácia, nutrição, biotecnologia e outras. Os fungos tiveram seu grupo reconhecido como reino a partir da descrição de **Whittaker** em 1969, quando foram diferenciados com base em sua morfologia e modo de nutrição dos seres vivos, o que levou à criação do reino **Fungi**. Este reino, por sua vez, faz parte do domínio **Eukaria**, que reúne todos os organismos eucariontes. A Micologia é, portanto, a área da Biologia destinada ao estudo dos fungos.

Os fungos são organismos eucariontes, podem ser unicelulares (leveduriformes) ou multicelulares (filamentosos), são haploides (homo ou heterocariótico) e possuem parede celular com quitina e α -glucano em sua composição. Não apresentam pigmentos fotossintéticos, nem plastos. Os fungos, com poucas exceções, originam-se de **esporos** (reprodução sexuada) ou **conídios** (reprodução assexuada), corpúsculos comparados às sementes de plantas superiores, embora não sejam morfologicamente semelhantes a estas.

Os esporos ou conídios necessitam de calor e umidade para germinarem. O resultado dessa germinação é a formação de filamentos finos (um ou mais) chamados de **tubos germinativos**, os quais se ramificam em vários sentidos formando uma massa filamentosa, chamada **micélio**, que forma o sistema vegetativo, responsável pelo desenvolvimento fúngico e pela absorção dos alimentos. Os filamentos que formam o micélio são denominados de **hifas**. O sistema vegetativo dos fungos se encontra no interior dos tecidos parasitados, no solo ou na matéria orgânica em decomposição. Algumas das estruturas podem ser visualizadas na Figura 4.4.

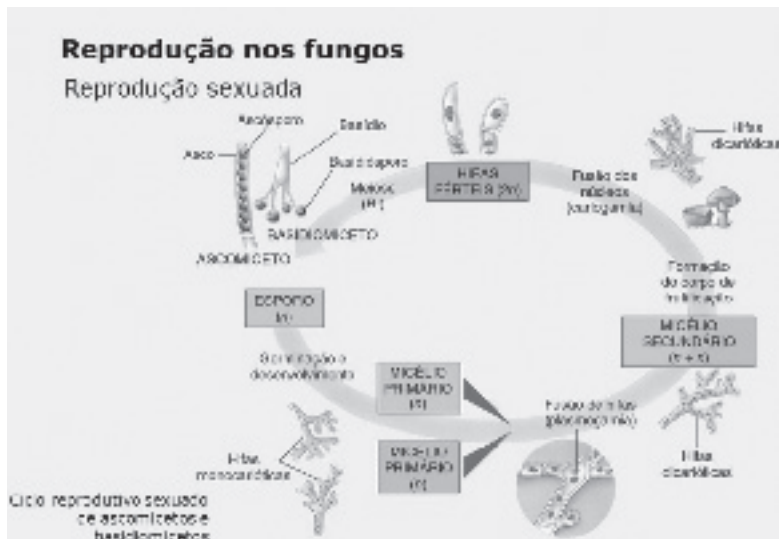
Figura 4.4 | Estruturas dos fungos



Fonte: <<https://cienciasnamosca2.wordpress.com/2012/08/20/reino-fungi-fungos>>. Acesso em: 25 ago. 2016.

Conforme o tipo de reprodução, os fungos podem ser divididos em três grupos: a) holomorfo – realiza reprodução sexuada e assexuada; b) anamorfo – realiza apenas reprodução assexuada; c) teleomorfo – realiza apenas reprodução sexuada. A Figura 4.5 mostra o esquema do ciclo de vida geral dos fungos.

Figura 4.5 | Esquema do ciclo de vida dos fungos



Fonte: <<http://slideplayer.com.br/slide/2915529/>>. Acesso em: 1 set. 2016.

Os fungos são seres heterotróficos, ou seja, necessitam de matéria orgânica já formada, que sirva como fonte de energia e constituintes celulares. Sua nutrição se dá por meio da absorção de nutrientes solúveis, devido à rigidez da parede celular. A energia vital é obtida pela respiração celular ou fermentação, e as reservas energéticas são sob forma de glicogênio.



Exemplificando

Os basidiomicetos, por serem excelentes degradadores de material lignocelulósico, desempenham papel fundamental na ciclagem de nutrientes na natureza, principalmente no ciclo do carbono.

Por não possuírem clorofila, os substratos têm que fornecer as substâncias já elaboradas e indispensáveis à alimentação dos fungos, obrigando-os a viverem em estado de saprofitismo, parasitismo, simbiose (exemplo: líquens) ou mutualismo. E podem ser subdivididos em: a) **saprófitas obrigatórios** – vivem exclusivamente em matéria orgânica e não parasitam organismos vivos; b) **parasitas facultativos ou saprófitas facultativos** – capazes de causar doença ou de viver em restos orgânicos, conforme as circunstâncias; c) **parasitas obrigatórios** – vivem exclusivamente atacando e parasitando organismos vivos.

A taxonomia dos fungos é fundamentada em caracteres citológicos e morfológicos. O reino Fungi é dividido em sete filos, (*Chytridiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Blastocladiomycota*, *Microsporídia*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* e *Basidiomycota*). As principais doenças causadas por fungos são: tínea do corpo (micose superficial de pele, são manchas redondas com coceira); tínea da cabeça (falhas no couro cabeludo, contagiosa); tínea da virilha (atinge pernas e virilha); pitíriase versicolor (manchas brancas com descamação); candidíase (afeta a pele e mucosas – pode ser oral, vaginal, onicomicose); histoplasmose (infecção fúngica); onicomicose (micose das unhas).



Pesquise mais

Caro aluno, acesse nossa sugestão de leitura sobre fungos. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/bmm/grad/arquivos/BMM_0122_2009/aula_T7/Caracteristica%20gerais%20dos%20fungos.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2016.



Refleta

Os fungos são seres vivos que podem ser encontrados em todos os ambientes. Entre os benefícios e prejuízos que eles podem trazer ao homem estão, respectivamente, a sua utilização como alimento e a causa de micoses.

Nesta seção você teve a oportunidade de ser brevemente introduzido à virologia e às viroses humanas, e à micologia e às doenças fúngicas. A partir de agora sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre virologia e viroses humanas e micologia e doenças fúngicas, vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no *Diálogo aberto* sobre o caso de três colaboradores afastados por motivo de saúde, que se passou numa UAN de uma empresa. O terceiro grupo deverá descrever as características das infecções pelo vírus *Coxsackie* e pelo fungo *Trichophyton rubrum*, e destacar os principais vírus e fungos patógenos.



Atenção

A característica geral dos vírus constitui um grupo grande e heterogêneo de agentes infecciosos, semelhantes pelo fato de serem parasitos intracelulares obrigatórios para as células de seus hospedeiros específicos. Esses seres não possuem capacidade de movimentação nem de metabolismo autônomo. Reproduzem-se por replicação numa célula hospedeira, podendo sofrer mutações.

A característica geral dos vírus constitui um grupo grande e heterogêneo de agentes infecciosos, semelhantes pelo fato de serem parasitos intracelulares obrigatórios para as células de seus hospedeiros específicos. Esses seres não possuem capacidade de movimentação nem de metabolismo autônomo. Reproduzem-se por replicação numa célula hospedeira, podendo sofrer mutações. O vírus de *Coxsackie* ou *Coxsackievirus* pertence à família dos *enterovirus*, que inclui o vírus da poliomielite e hepatite A. Esse vírus pode ser transmitido de pessoa para pessoa por mãos mal lavadas, espirros e expectoração. Os sintomas mais

comuns são febre de 38 a 40 °C, por 2 a 4 dias, dor de cabeça, dor muscular, dor de garganta, desconforto abdominal e náuseas. Esse vírus é encontrado no mundo inteiro, e os surtos são mais frequentes no verão. As principais viroses humanas são: raiva, AIDS, hepatite, poliomielite (paralisia infantil), herpes, varíola, gripe, caxumba, sarampo, rubéola, febre amarela, dengue, catapora, febre hemorrágica.

Os fungos são organismos eucariontes, podem ser unicelulares (leveduriformes) ou multicelulares (filamentosos), são haploides (homo ou heterocariótico) e possuem parede celular com quitina e α -glucano em sua composição. Não apresentam pigmentos fotossintéticos, nem plastos. O *Trichophyton rubrum* é um fungo dermatófito que coloniza a superfície da pele humana e se alimenta de queratina, causando pé de atleta, onicomicose, dermatofitose nas mãos, virilha e corpo. Esse fungo é comum no mundo inteiro, e mais susceptível entre homens. As principais doenças causadas por fungos são: tineia do corpo (micose superficial de pele – são manchas redondas com coceira); tineia da cabeça (falhas no couro cabeludo – contagiosa); tineia da virilha (atinge pernas e virilha); pitíriase versicolor (manchas brancas com descamação); candidíase (afeta a pele e mucosas – pode ser oral, vaginal, onicomicose); histoplasmose (infecção fúngica); Onimicose (micose das unhas).

Avançando na prática

Desafiamos você a praticar o que aprendeu transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois as compare com as de seus colegas.

Dispensa por motivo de saúde

Descrição da situação-problema

Pedro é manipulador de alimentos na UAN de um hospital público, e recentemente apareceu com uma micose cutânea nos dedos da mão. Os exames laboratoriais comprovaram a presença de fungo do gênero *Cândida*, caracterizada por um inchaço na região próxima à cutícula, que inicialmente se torna eritematosa e edematosa, podendo se inflamar e provocar dor no local e saída de pus. Essa doença atinge principalmente adultos que expõem sucessivamente as mãos à umidade (água) em excesso. Mediante ao exposto, o profissional responsável técnico da UAN afastou o colaborador por motivo de saúde. Descreva as principais características dos fungos e aponte as micoses cutâneas mais comuns.



Lembre-se

Os fungos são organismos eucariontes, podem ser unicelulares (leveduriformes) ou multicelulares (filamentosos), são haploides (homo ou heterocariótico) e possuem parede celular com quitina e α -glucano em sua composição.

Resolução da situação-problema

Pensando na situação exposta, vimos um caso de afastamento das atividades do colaborador da UAN, não por quebra de conduta, mas, por motivo de saúde. Os fungos são organismos eucariontes, podem ser unicelulares (leveduriformes) ou multicelulares (filamentosos), são haploides (homo ou heterocariótico) e possuem parede celular com quitina e α -glucano em sua composição. Não apresentam pigmentos fotossintéticos, nem plastos. Por não possuírem clorofila, os substratos, têm que fornecer as substâncias já elaboradas e indispensáveis à alimentação dos fungos, obrigando-os a viverem em estado de saprofitismo, parasitismo, simbiose (exemplo: líquens) ou mutualismo. E podem ser subdivididos em: a) Saprófitas obrigatórios – vivem exclusivamente em matéria orgânica e não parasitam organismos vivos; b) Parasitas facultativos ou saprófitas facultativos – capazes de causar doença ou de viver em restos orgânicos, conforme as circunstâncias; c) Parasitas obrigatórios – vivem exclusivamente atacando e parasitando organismos vivos. As principais doenças causadas por fungos são: tínea do corpo (micose superficial de pele, provocando manchas redondas com coceira); tínea da cabeça (falhas no couro cabeludo - contagiosa); tínea da virilha (atinge pernas e virilha); pitíriase versicolor (manchas brancas com descamação); candidíase (afeta a pele e mucosas - pode ser oral, vaginal, onicomicose); histoplasmose (infecção fúngica); onimicose (micose das unhas).



Faça você mesmo

Com base na situação que você acabou de resolver, reflita e descreva uma situação parecida que tenha vivenciado ou que tenha acontecido com algum estabelecimento que conheça próximo a você e tente solucioná-la considerando seus estudos.

Faça valer a pena

1. Os fungos tiveram seu grupo reconhecido como reino a partir da descrição de Whittaker, em 1969, quando foram diferenciados com base em sua morfologia e modo de nutrição dos seres vivos, o que levou à criação do reino Fungi. Este reino, por sua vez, faz parte do domínio Eukaria, que reúne todos os organismos eucariontes. A Micologia é, portanto, a área da Biologia destinada ao estudo dos fungos. Assinale a opção correta sobre as características dos fungos:

- a) São seres autotróficos.
- b) Possuem dois ciclos principais reprodutivos de vida: Ciclo Lítico e Ciclo Lisogênico.
- c) Possuem cloroplastos.
- d) São seres heterotróficos.
- e) Realizam fotossíntese.

2. Tínea do corpo (são manchas na pele redondas com coceira); tínea da cabeça (falhas no couro cabeludo – é contagiosa); tínea da virilha (atinge pernas e virilha); pitíriase versicolor (manchas brancas com descamação); candidíase (afeta a pele e mucosas – pode ser oral, vaginal, onicomicose); onimicose (micose das unhas). Essas doenças são característica de quais microrganismos? Assinale a opção correta.

- a) Fungos.
- b) Vírus.
- c) Bactérias.
- d) Parasitas.
- e) Protozoários.

3. Os fungos são seres vivos que podem ser encontrados em todos os ambientes. Entre os benefícios e prejuízos que eles podem trazer ao homem, podemos citar, respectivamente, alimento e micoses. Assinale a opção correta de alimentos que são feitos com a participação de determinados tipos de fungos:

- a) Bacon e linguiça.
- b) Pão e linguiça.
- c) Vinho e cerveja.
- d) Vinho e sucos.
- e) logurte e sorvete.

Seção 4.4

Diagnóstico de doenças virais e fúngicas

Diálogo aberto

Olá, aluno! Seja bem-vindo à quarta seção da quarta unidade de estudos deste livro didático! E para dar continuidade aos estudos sobre doenças não relacionadas a alimentos, nesta seção, você terá oportunidade de aprender os meios de diagnóstico microbiológico das doenças virais e fúngicas.

Agora vamos relembrar a situação hipotética que foi apresentada no "Convite ao estudo" que visa aproximar os conteúdos teóricos à prática profissional. Nela foi descrito que grupos de alunos de graduação tiveram como atividade da disciplina de "Bases para a Vigilância Sanitária de Alimentos", analisar e resolver situações que acontecem durante o exercício da profissão em locais de trabalho. A professora expôs uma situação-problema que se passa em uma UAN de uma empresa, onde três colaboradores foram afastados por motivos de saúde. O quarto grupo descreverá os meios de diagnóstico do vírus e fungo em questão.

Para que você consiga responder a esses e a outros questionamentos sobre a conduta ideal dos profissionais com responsabilidade técnica nos diversos setores da área da saúde, serão apresentadas, de forma contextualizada, no tópico "Não pode faltar", as regras e as normas de conduta e as obrigações que todos os profissionais que se enquadram na área de saúde devem cumprir com o objetivo de proporcionar a integridade e o bem-estar dos comensais e garantir a segurança alimentar.

Não pode faltar

Você sabe qual é a importância de estudar o diagnóstico de doenças virais e fúngicas? Como pôde perceber, na situação-problema apresentada no "Convite ao estudo", da Seção 4.1, um organismo doente provoca reações orgânicas alteradas, causa modificações da fisiologia normal corpórea, perda da capacidade total ou parcial da concentração e da vontade, e gera maior risco de acidente de trabalho.

É um organismo saudável leva a maior atenção, melhor concentração e, portanto, menor risco de acidente de trabalho.

O diagnóstico das infecções tanto virais quanto fúngicas evoluiu nas últimas décadas como um importante aliado na medicina, colaborando efetivamente para a identificação do patógeno, com exatidão e precisão da resposta, direcionando e simplificando o tratamento da doença.

1. Meios de diagnóstico microbiológico das doenças virais

A comprovação laboratorial do aspecto do vírus no paciente permite três tipos de procedimentos: 1. Detecção do patógeno; 2. Detecção de um produto do patógeno; 3. Detecção de uma resposta imune. Tais procedimentos são fundamentais no tratamento da doença, pois definem situações importantes, tais como: a) manejo do paciente; b) intervenção quimioterápica possível (no caso de herpesvírus, HIV, HPV); c) controle do vetor (no caso de dengue e febre amarela); d) vacinação (no caso de raiva, poliomielite, sarampo, rubéola); e) diferenciação de doenças que apresentam quadros clínicos semelhantes (no caso de mononucleose, citomegalovirose e rubéola); f) procura de um agente etiológico para determinada doença.

Os meios ou métodos de diagnóstico para infecções virais podem ser: **diretos** e **indiretos**. Os **métodos diretos** identificam a presença do vírus, antígenos ou genomas virais e são divididos em a) **isolamento viral**, que compreende: a.1) detecção do vírus em cultura; a.2) identificação do vírus em cultura; a.3) titulação do vírus em cultura e b) **microscopia eletrônica**.

a.1) Método direto (isolamento viral por detecção do vírus em cultura) – pode ser por 4 tipos diferentes: **Efeito citopático (ECP)** – são alterações degenerativas celulares induzidas por determinados vírus, tais degenerações podem ser observadas por microscópio; **Hemadsorção** – são alterações na superfície das células infectadas, induzidas por vírus, conferindo-lhes afinidade para as hemácias (Ex: vírus Influenza); **Interferência viral** – vírus que não induzem ao ECP, são colocados em realce recorrendo à sua capacidade de interferir com a replicação de um outro vírus (vírus indicador), que possui um ECP distinto (ex.: vírus da rubéola junto com o vírus *Coxsackie*); **Hemaglutinação** – certos vírus produzem proteínas hemaglutinantes que aglutinam suspensão de hemácias (ex.: vírus da rubéola, vírus influenza e parainfluenza).

a.2) Método direto (identificação de vírus em cultura) – pode ser realizada por três tipos diferentes: **Imunofluorescência (IFD)** – com uso de anticorpos marcados com fluorocromos; **Imunoperoxidase direta** – possui princípio semelhante ao IFD, porém os anticorpos são marcados com peroxidase; **Neutralização** – baseia-se na perda da virulência de um vírus devido à interação com o anticorpo específico.

a.3) Método direto (titulação de vírus em cultura) – pode ser realizado por

dois tipos diferentes: **Método das placas** – consiste na quantificação das placas de lise induzidas por uma determinada diluição viral (UFP); **Método da diluição limite (*end-point dilution*)** – consiste na inoculação de diluições crescentes de uma suspensão viral, em células susceptíveis.

b) Método direto microscopia eletrônica – possibilita a observação de partículas virais viáveis e também inviáveis, é aplicável a todos os vírus e permite a identificação do agente. Desvantagem: método caro, possui baixa sensibilidade e mão de obra especializada.

Os **Métodos Indiretos** pesquisam anticorpos específicos (tipos: imunoglobulinas IgG e IgM) para um certo vírus (sorologia), e podem ser realizados por determinadas técnicas de detecção e quantificação de anticorpos, tais como: 1. Reação de Fixação do Complemento (RFC); 2. Reação de Inibição da Hemaglutinação (IHA); 3. Método Imunoenzimáticos (EIA); 4. Método Imuno Radioativo (RIA); 5. Aglutinação; 6. *Western Blot* (WB).



Exemplificando

O método de detecção da infecção adenoviral é realizado por cultura ou antígeno. Os adenovírus associados à patologia respiratória podem ser isolados a partir das secreções faríngeas, oculares e fezes, por inoculação das colheitas em diversas culturas celulares. Os adenovírus também podem ser detectados por imunoensaio e PCR (reação em cadeia da polimerase), que é um método de criação de múltiplas cópias de DNA sem o uso de um organismo vivo. Muito usado para sequenciamento de genes, diagnóstico de doenças hereditárias, e diagnóstico de doenças infecciosas.



Pesquise mais

Caro aluno, conheça mais sobre diagnósticos microbiológicos de doenças virais e virologia lendo o livro: TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2015.

2. Meios de diagnóstico microbiológico das doenças fúngicas

A importância do diagnóstico é demonstrada pela observação de um fungo na amostra biológica, pois aponta a invasão do fungo no tecido, possibilitando uma informação imediata ao profissional de saúde, que poderá determinar a terapia adequada ao paciente. É realizado o exame microscópico das amostras, que poderá ocorrer por meio de várias técnicas, as quais dependem do tipo da amostra e suspeita clínica, e a cultura do material da amostra, que é um método mais específico e

sensível. Os diagnósticos compreendem exames de microscopia, cultura de amostras biológicas para isolamento de fungos e identificação dos fungos.

2.1 Os exames microscópicos podem ser por:

2.1.1 Exame microscópico com Hidróxido de Potássio (KOH) a 20% – procedimentos: 1. Pingue uma gota de KOH a 20% em uma lâmina, e sobre esta, 0,5 mL ou uma porção da amostra a ser examinada; 2. Cubra a preparação com a lamínula; 3. Aqueça ligeiramente sobre a chama (bico de Bunsen), não deixe ferver a mistura; 4. Examine a preparação após 20 minutos no microscópio óptico (MO) com objetiva de 10x e 40x. Essa técnica é aplicada para exame de pele, pelos, unhas, tecido (biópsia), exsudatos espessos e materiais densos.

2.1.2 Exame microscópico com tinta nanquim (tinta da China) – procedimentos: 1. Pingar uma gota de tinta nanquim e uma gota do sedimento da amostra centrifugada sobre uma lâmina; 2. Cobri-la com lamínula; 3. Observar ao MO com objetivas de 10x e 40x. Essa técnica é utilizada em amostras de líquido, secreções ou exsudatos, urina e leveduras do gênero *Cryptococcus*.

2.1.3 Exame microscópico com coloração pelo método de Gram – todos os fungos são Gram-positivos, portanto, esse método não visa diferenciar os microrganismos, e sim discriminar elementos fúngicos de artefatos encontrados em urina, secreções e fezes. Procedimento: 1. Espalhe a amostra de forma homogênea, em movimentos circulares, em uma lâmina; 2. Fixe-a com calor e a submeta à coloração.

2.1.4 Exame microscópico com coloração Panótica (Giemsa, Leishman ou Wright) – é usado para pesquisa de *Histoplasma capsulatum* em amostras biológicas como medula óssea, sangue e secreções cutâneas. Procedimento: 1. Fazer um esfregaço parecido com o usado na coloração de Gram; 2. Fixar com metanol e corar segundo o método escolhido.

2.2 Cultura de amostra biológica para isolamento de fungos

Os **meios de cultura** usados para o isolamento de fungos, provenientes de amostras biológicas, são adquiridos no comércio, na forma desidratada. Após a hidratação, o meio é distribuído em tubos e esterilizado em autoclave. O **água Sabouraud dextrose (ASD), ou água Sabouraud**, é o meio tradicional usado em laboratório de micologia. Geralmente, é utilizado um antibiótico que impede o crescimento de bactérias que prejudicam o isolamento de fungos. O antibiótico mais indicado é o **cloranfenicol**, pois resiste à autoclavação.

No caso de isolamento de dermatófitos se utiliza o **água batata**, comercial desidratado que aumenta a esporulação e facilita a identificação do gênero e espécie do fungo. No caso de fungos dimórficos, de crescimento lento, utilizam-

se os meios enriquecidos como **ágar infusão de cérebro-coração (BHI)**, pode-se acrescentar de 5 a 10% de sangue de carneiro e de antibióticos (cloranfenicol, penicilina e estreptomicina). Vale ressaltar que os **meios de cultura** são selecionados de acordo com o agente etiológico e o tipo de amostra, conforme a suspeita clínica. Conforme os resultados observados no exame microscópico das amostras, pode-se redirecionar o procedimento para o isolamento do agente. Para amostras biológicas são utilizados dois tubos de meio para semeadura da amostra, que são incubados à temperatura de 30 °C.

Procedimentos: semear as amostras processadas, com alça de níquel-cromo ou pipeta Pasteur, na superfície dos meios de cultura, em movimentos de estrias (zigue-zague). O ASD é o meio mais utilizado. A temperatura de incubação para todas as amostras é de 30 °C, que são mantidas por estufas **BOD (Body oxygen demand)**.

2.3 Identificação de fungos

Essa técnica se fundamenta na observação da morfologia da colônia e nos seus aspectos microscópicos. Na análise da colônia são observados a cor, a textura, a superfície e o pigmento difusível no meio de cultura. A identificação presuntiva se baseia na velocidade de crescimento, que é classificada como: rápida, menor que 7 dias; intermediária, de 8 a 14 dias; e lenta, maior que 15 dias. Vale ressaltar o estudo da identificação das leveduras, dos fungos filamentosos pela técnica do microcultivo e a identificação dos fungos dimórficos.



Pesquise mais

Caro aluno, conheça mais sobre diagnósticos microbiológicos de doenças fúngicas, e outras técnicas. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/audemicrobiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso em: 1 set. 2016.

Sugerimos também a leitura do livro de *Microbiologia*, em que poderá se aprofundar sobre micologia geral.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2015.



Refleta

As colônias de dermatófitos geralmente crescem a partir do 10º dia de incubação à temperatura ambiente, e os fungos são identificados pela sua morfologia macroscópica e microscópica. No Brasil, os dermatófitos mais frequentes são *T. rubrum* e *M. canis*.

Nesta seção você aprendeu sobre os meios de diagnóstico microbiológico das doenças virais e fúngicas. A partir de agora, sua responsabilidade social com seus colegas deve ser refletida e analisada antes mesmo de ser colocada em prática.

Sem medo de errar

Após o estudo sobre diagnóstico de doenças virais e fúngicas vamos resolver a situação-problema apresentada nesta seção no "Diálogo aberto", sobre o caso de três colaboradores afastados por motivo de saúde, que se passou numa UAN de uma empresa. O quarto grupo descreverá os meios de diagnóstico do vírus e do fungo em questão.



Atenção

O diagnóstico das infecções tanto virais quanto fúngicas evoluiu nas últimas décadas como um importante aliado na medicina, colaborando efetivamente para a identificação do patógeno, com exatidão e precisão da resposta, direcionando e simplificando o tratamento da doença.

Pensando na situação exposta, vimos um caso de afastamento das atividades dos colaboradores da UAN, não por quebra de conduta, mas por motivo de saúde. O vírus de *Coxsackie* ou *Coxsackievirus* pertence à família dos Enterovirus, que inclui o vírus da poliomielite e hepatite. O diagnóstico laboratorial é realizado por meio do método direto (isolamento viral por detecção da presença de vírus em cultura), pela técnica da **interferência viral**, em que os vírus que não induzem a ECP são colocados em evidência, recorrendo à sua capacidade de interferir com a replicação de um outro vírus (vírus indicador), que possui um ECP característico (ex.: vírus da rubéola + *Coxsackie*). O *Trichophyton rubrum* é um fungo dermatófito que coloniza a superfície da pele humana e se alimenta de queratina, causando pé de atleta, onicomicose, dermatofitose nas mãos, virilha e corpo. Como primeira medida, realiza-se a análise microscópica da amostra com KOH a 20%, que revelará hifas regulares, septadas e artrosporadas, em seguida realiza-se a cultura. A amostra deve ser semeada em meio ASD, com auxílio de uma alça. Depois incubar em BOD a 30 °C, a partir do 10º dia de incubação identifique os fungos pela sua morfologia macroscópica e microscópica.

Avançando na prática

Dispensa por motivos de saúde

Descrição da situação-problema

Pedro é manipulador de alimentos na UAN de um hospital público e recentemente apareceu com uma micose cutânea nos dedos da mão. Os exames laboratoriais comprovaram a presença de fungo do gênero *Cândida*, caracterizada por um inchaço na região próximo à cutícula, que inicialmente se torna eritematosa e edematosa, podendo se inflamar e provocar dor no local e saída de pus. Essa doença atinge principalmente adultos que expõem sucessivamente as mãos à umidade (água) em excesso. Diante da situação exposta, o profissional responsável técnico da UAN afastou o colaborador por motivo de saúde. Descreva os meios para se fazer o diagnóstico do fungo em questão.



Lembre-se

A importância do diagnóstico é demonstrada pela observação de um fungo na amostra biológica, pois aponta a invasão do fungo no tecido, possibilitando uma informação imediata ao profissional de saúde, que poderá determinar a terapia adequada ao paciente.

Resolução da situação-problema

Pensando no caso relatado, observamos que o colaborador foi afastado de suas atividades da UAN, não por quebra de conduta, mas por motivo de saúde.

Para exames de fragmentos de pele e unhas o método de escolha é o exame microscópico com Hidróxido de Potássio (KOH) a 20%, com a realização dos seguintes procedimentos: 1. Pingue uma gota de KOH a 20% em uma lâmina, e sobre esta, 0,5 mL ou uma porção da amostra a ser examinada; 2. Cubra o preparo com a laminula; 3. Aqueça ligeiramente sobre a chama (bico de Bunsen), não deixe ferver a mistura; 4. Examine a preparação após 20 minutos no microscópio óptico (MO) com objetiva de 10x e 40x. Essa técnica é aplicada para exame de pele, pelos, unhas, tecido (biópsia), exsudatos espessos e materiais densos. A levedura se apresentará como células arredondas com brotamentos, podendo ter hifas ou não. A cultura é de crescimento rápido entre 24 a 72 horas, em temperatura de 25 a 37 °C. A formação de colônias de coloração branca a bege ocorre em 3 a 4 dias de incubação. A identificação da *Candida albicans* ocorre pela facilidade da levedura em formar tubo germinativo na prova de cultura em lâmina.



Faça você mesmo

Caro aluno, até esta etapa de seus estudos, você já obteve conhecimento sobre as doenças bacterianas, os diagnósticos de doenças bacterianas não relacionadas a alimentos, as doenças virais e fúngicas, e os diagnósticos de doenças virais e fúngicas não relacionadas a alimentos. Ou seja, você teve a oportunidade de conhecer as principais doenças microbianas e compreender os meios de diagnóstico. Agora, o convidamos a elaborar um diagnóstico microbiológico de uma doença bacteriana. Para isso, é importante que você realize uma revisão das quatro seções da Unidade 4.

Desejamos sucesso!

Faça valer a pena

1. Os meios ou métodos de diagnóstico para infecções virais podem ser diretos e indiretos. Os métodos indiretos pesquisam anticorpos específicos (IgG, IgM) para um certo vírus (sorologia), e podem ser realizados por determinadas técnicas de detecção e quantificação de anticorpos. Assinale a alternativa correta que contenha alguns exemplos de métodos indiretos de diagnóstico viral.

- a) Método imunoenzimáticos (EIA), Método Imuno radioativo (RIA), *Western Blot* (WB).
- b) Métodos do hidróxido de potássio a 20%, tinta nanquim, método de Gram e coloração panótica.
- c) Prova da catalase, prova da coagulase, prova do crescimento em ágar manitol, prova da bacitracina.
- d) Coloração de Gram, coloração de Ziehl – Neelsen, teste de lepromina ou Mitsuda.
- e) Baciloscopia, teste de Mitsuda, teste do PYR.

2. Os meios ou métodos de diagnóstico para infecções virais podem ser diretos e indiretos. Os métodos diretos identificam a presença do vírus, antígenos ou genomas virais, e são divididos em: a) isolamento viral, que compreende: a.1) Detecção do vírus em cultura; a.2) Identificação do vírus em cultura; a.3) titulação do vírus em cultura, e b) microscopia eletrônica. Assinale a alternativa correta sobre o método de microscopia eletrônica:

- a) Não se aplica a todos os vírus, é um método barato e não precisa de

mão de obra específica.

b) Não permite a identificação do vírus, possibilita a visualização de todas as partículas virais, não se aplica a todos os vírus.

c) Não se aplica a todos os vírus, não permite a identificação dos vírus, permite a visualização parcial dos vírus.

d) Possibilita a observação de partículas virais viáveis e também inviáveis, é aplicável a todos os vírus e permite a identificação do agente.

e) Possibilita a observação de partículas virais viáveis e inviáveis, se aplica a todos os vírus, é um método barato e não precisa de mão de obra especializada.

3. Os meios ou métodos de diagnóstico para infecções virais podem ser diretos e indiretos. Os métodos diretos identificam a presença do vírus, antígenos ou genomas virais e são divididos em a) isolamento viral, que compreende: a.1) Detecção do vírus em cultura; a.2) Identificação do vírus em cultura; a.3) titulação do vírus em cultura; e b) microscopia eletrônica. Assinale a alternativa correta que contenha um método de diagnóstico laboratorial direto de vírus.

a) Coloração de Gram.

b) Hemadsorção.

c) Baciloscopia.

d) Coloração de Ziehl–Neelsen.

e) Teste da catalase.

Referências

BERTOLOZZI, Maria Rita et al. O controle da tuberculose: um desafio para a saúde pública. **Revista de Medicina**, v. 93, n. 2, p. 83-89, 2014. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/revistadc/article/download/97330/96342>>. Acesso em: 4 ago. 2016.

NEUSELY, Valéria Neliane. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SANTOS, A. et al. Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 43, p. 413-423, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442007000600005>. Acesso em: 18 ago. 2016.

SIH, Tania et al. **Tonsilite viral ou bacteriana?** Manual de otorrinolaringologia pediátrica da IAPO. Guarulhos: Lis, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=7040571&pid=S0034-7299200800050001800032&lng=en>. Acesso em: 7 set. 2016.

SILVA, Jaqueline Otero et al. Enteroparasitoses e onicomicoses em manipuladores de alimentos do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 4, p. 385-92, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbepid/v8n4/05.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

SILVA JUNIOR, Eneo Alves da. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 7. ed. São Paulo: Varela, 2014.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2015.

ZANARDI, Daniela et al. Avaliação dos métodos diagnósticos para onicomicose. In: AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA ONICOMICOSE, 83., 2008. Rio de Janeiro. **Anais Brasileiros de Dermatologia...** Rio de Janeiro, v. 83, n. 2, p. 119-24, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Daniel_Holthausen_Nunes/publication/262498994_Evaluation_of_the_diagnostic_methods_of_onychomycosis/links/00b7d53a729738762f000000.pdf>. Acesso em: 8 set. 2016.

Anotações

[illegible]

Anotações

[illegible]

Anotações

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

Anotações

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

Anotações

[illegible]

Anotações

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

Anotações

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.



ISBN 978-85-8482-657-5



9 788584 826575 >