

---

## The importance of microbiological analysis in food

### A importância das análises microbiológicas em alimentos

Received: 2023-02-10 | Accepted: 2023-03-20 | Published: 2023-03-31

---

#### **Eunara Eugênia Lopes Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0551-7522>  
Universidade Federal do Piauí, Brasil  
E-mail: eunara\_lima@hotmail.com

#### **Thiago Ruam Nascimento**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4585-6366>  
Centro Universitário Brasileiro, Brasil  
E-mail: thiago.ruan19@gmail.com

#### **Débora Monteiro de Souza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3924-2002>  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil  
E-mail: dmdesouzavet@gmail.com

#### **Iran Alves da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8723-7075>  
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil  
E-mail: iranalves46@gmail.com

#### **Marcelo Costa Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6606-0538>  
Universidade Federal de Jataí, Brasil  
E-mail: rodriguesmc17@gmail.com

#### **Jailton Lins Jordão**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6728-8286>  
Centro Universitário Brasileiro, Brasil  
E-mail: jorgedoouro90@gmail.com

#### **Francisco Ronner Andrade da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2216-4271>  
Centro Universitário Santa Maria, Brasil  
E-mail: ronner\_andrade@hotmail.com

#### **Ariadne Pereira Pedroza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5778-7436>  
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
E-mail: ariadne.pedroza@gmail.com

#### **Valtenisa de Andrade Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8757-0756>  
Instituto Federal do Piauí, Brasil  
E-mail: valtenisaandrade@gmail.com

#### **Giulliene Pereira Rodrigues**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2328-2379>  
Centro Universitário Unipê, Brasil  
E-mail: giulliene\_eli@hotmail.com

#### **Camyla Éllen da Silva Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9759-0144>  
Universidade Federal de Pernambuco, Brasil  
E-mail: camyla.oliveira@ufpe.br

**Matheus Marques Prates**ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8430-692X>

Centro Universitário de Caratinga, Brasil

E-mail: [mmprates3@gmail.com](mailto:mmprates3@gmail.com)**Hellen Pereira Rodrigues**ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6129-1933>

Centro Universitário de Caratinga, Brasil

E-mail: [hellenrp24@gmail.com](mailto:hellenrp24@gmail.com)**Sara Azevedo de Matos**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5609-3953>

Universidade São Judas Tadeu, Brasil

E-mail: [sara\\_azzo@hotmail.com](mailto:sara_azzo@hotmail.com)**Ana Flávia de Oliveira Toss**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4669-8307>

Centro Universitário Venda Nova do Imigrante, Brasil

E-mail: [flavinha.toss@hotmail.com](mailto:flavinha.toss@hotmail.com)

---

**ABSTRACT**

**Objective:** This article consists of an integrative review of basic, qualitative, exploratory and bibliographical types, in which it aims to expand the knowledge of professionals in the area, as well as the population about the importance of microbiological analyzes and their respective types and pathogens .

**Methods:** This is an integrative literature review, with basic, qualitative, exploratory and bibliographical research being carried out.

**Results:** The main purpose of the microbiological analysis of a food is to obtain information about the hygiene conditions from its production to its distribution for consumption, about its shelf life and the risk it represents to health. When a food is suspected of having caused a foodborne illness, the etiological agent must be identified so that the correct measures can be adopted.

**Conclusion:** In short, it is possible to conclude that the microbiological analyzes of food are extremely important, since, if not carried out, they can affect the population causing DTA's and, thus, may result, in some cases, in death.

**Keywords:** Food; Foodborne Diseases; Microbiological techniques.

---

**RESUMO**

**Objetivo:** O presente artigo consiste em uma revisão integrativa dos tipos básica, qualitativa, exploratória e bibliográfica, na qual tem por objetivo ampliar os conhecimentos de profissionais da área, bem como da população acerca da importância das análises microbiológicas e dos seus respectivos tipos e patógenos.

**Métodos:** Trata-se de uma revisão de literatura do tipo integrativa, tendo sido realizada uma pesquisa dos tipos básica, qualitativa, exploratória e bibliográfica.

**Resultados:** A principal finalidade da análise microbiológica de um alimento é a obtenção de informações sobre as condições de higiene desde a sua produção até sua distribuição para consumo, acerca da sua vida de prateleira e do risco que representa à saúde. Quando um alimento é suspeito de ter causado uma enfermidade de origem alimentar, deve-se identificar o agente etiológico da mesma, para que as medidas corretas sejam adotadas.

**Conclusão:** Em suma, é possível concluir que as análises microbiológicas dos alimentos são de extrema importância, visto que, se não forem realizadas, podem acometer a população provocando as DTA's e, assim, podendo resultar, em alguns casos, em óbito.

**Palavras-chave:** Alimentos; Doenças Transmitidas por Alimentos; Técnicas microbiológicas.

---

## INTRODUÇÃO

Vários estudos realizados no Brasil demonstram a presença de bactérias patogênicas nos alimentos, causando as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) (NUNES, 2013). As mesmas são provocadas pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados, julgadas pela Organização Mundial de Saúde como um dos principais problemas de saúde pública global (AMARAL *et al.*, 2021).

De acordo com Amaral *et al. apud* Ministério da Saúde, registros epidemiológicos de 2009-2019 mostraram a ocorrência de 7.674 casos de surtos por DTA's, tendo 109 óbitos (AMARAL *et al.*, 2021). Os dados revelam que os restaurantes fazem parte desses casos, e constituem o segundo local onde ocorrem mais surtos alimentares, antecedido apenas pelas residências. Ainda que o número de surtos registrados no Brasil seja desvalorizado, a relevância é notada (MENDES, 2011).

Entre os vários parâmetros que indicam a qualidade e a inocuidade de alimentos, os mais importantes são aqueles que definem as suas características microbiológicas. É importante lembrar que alimentos crus, como carne, leite, vegetais, pescado, dentre outros, possuem microrganismos chamados “autóctones”, ou seja, microrganismos nativos, presentes no alimento, que fazem parte da microbiota natural destes produtos. No entanto, os alimentos podem obter microrganismos contaminantes que podem causar alterações como a deterioração, reduzindo sua vida útil, e podendo ser patogênicos, comprometendo a saúde do consumidor final (FOOD SAFETY BRAZIL, 2014).

A partir do que foi supracitado, torna-se necessário a realização das análises microbiológicas dos alimentos a fim de evitar as DTA's. E, para isso, é importante que se aprofunde o conhecimento sobre as mesmas, incluindo, saber identificar os patógenos que são encontrados em cada análise, bem como diferenciar os tipos de plaqueamentos existentes.

O presente artigo consiste em uma revisão de literatura integrativa dos tipos básica, qualitativa, exploratória e bibliográfica, na qual tem por objetivo ampliar os conhecimentos de profissionais da área, bem como da população acerca da importância das análises microbiológicas e dos seus respectivos tipos e patógenos.

## A IMPORTÂNCIA DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS EM ALIMENTOS

A principal finalidade da análise microbiológica de um alimento é a obtenção de informações sobre as condições de higiene durante sua produção, processamento, armazenamento e distribuição para o consumo, sobre sua vida de prateleira e sobre o risco que representa à saúde. Quando um alimento é suspeito de ter causado uma enfermidade de origem alimentar, a

identificação do agente etiológico deve ser de grande importância, para que as medidas corretas possam ser adotadas (FOOD SAFETY BRAZIL, 2014).

Um dos principais requisitos para a inocuidade dos alimentos é a sua preparação correta. Para isto, são utilizadas técnicas de manipulação adequadas que vão desde a coleta ou produção do alimento até a sua distribuição. As pessoas que trabalham em todas as etapas da cadeia de alimentos (produção, coleta, transporte e distribuição) são chamadas de manipuladores de alimentos. A contaminação dos alimentos pode acontecer em qualquer uma destas etapas, e por esse motivo o treinamento inicial do manipulador de alimentos é indispensável para uma manipulação adequada e um alimento seguro (BRASIL, 2004).

Os microrganismos que contaminam os produtos de origem animal podem ser responsáveis pelas infecções e/ou toxinfecções ocasionadas no homem. Dentre esses possíveis agentes, podem ser elencados: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Campylobacter* e *Yersinia*. As micotoxinas produzidas por fungos também representam perigo biológicos, motivo pelo qual sua presença nos alimentos – geralmente relacionada ao armazenamento inadequado - deve-se ser evitada.

Neste sentido, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, estabelece os padrões microbiológicos para os alimentos, com limites para os diferentes microrganismos, conforme o tipo de alimento (ANVISA, 2009). Ainda, pode-se afirmar que muitos agentes infecciosos e parasitários presentes nos animais podem ser transmitidos ao homem por diversas fontes, dentre estas pelo consumo dos produtos de origem animal, com destaque para os veiculadores da brucelose, tuberculose, toxoplasmose, teníase entre outras, de grande importância na saúde pública.

### Principais Microrganismos

Os microrganismos são encontrados praticamente em todos os lugares. A indústria alimentícia inclui os microrganismos na produção de diversos produtos, entre eles: vinagre, picles, bebidas alcoólicas, azeitonas, leites fermentados, pães, entre outros (CARVALHO, 2010). Os microrganismos são divididos em dois tipos: os causadores de toxinfecções e infecções alimentares e os indicadores.

Este último, são grupos 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). Os principais são: coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli*, bactérias mesófilas e psicrotólicas, bolores e leveduras e *Staphylococcus aureus*.

Os coliformes totais compreendem todas as bactérias anaeróbicas, facultativas, gram negativas, não formadoras de esporos, com capacidade para fermentar a lactose com a produção de ácido e gás a 32-35°C dentro de 48 horas. Números elevados de coliformes indicam falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto ou deficiência do tratamento térmico, como pasteurização, já que não são organismos esporulados (HAJDENWURCEL, 2004).

Os coliformes termotolerantes são as bactérias com forma de bastonetes, anaeróbicas facultativas, gram negativas, não formadoras de esporos, com capazes de fermentar a lactose com a produção de gás a 44,5-45,5°C dentro de 24 horas. A presença de coliformes termotolerantes em alimentos é menos representativa como indicador de contaminação fecal, do que a enumeração de *E. coli*, porém mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *E. coli* dentro do grupo de coliformes termotolerantes. A *E. coli* apesar de ser uma bactéria que pode ser introduzida no alimento a partir de outras fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o presente (HAJDENWURCEL, 2004).

Os psicotróficos são microrganismos com capacidade de crescerem a 7°C ou menos, multiplicando-se em alimentos refrigerados, mas com crescimento melhor nas temperaturas da faixa mesófila (SILVA *et al.*, 2017). Os mesófilos crescem na faixa de 20-37°C. As análises de alimentos são úteis para avaliar as condições de processamento do alimento. Contagens elevadas diminuem o período de vida útil ou vida de prateleira dos produtos alimentícios, resumindo na sua deterioração.

*Salmonella* spp. são bastonetes, Gram negativo, anaeróbicos facultativos, pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, são móveis devido a presença de flagelos peritríquios ou imóveis, não formam esporos, quimiorganotróficas, possuindo metabolismo oxidativo e fermentativo. Formam ácido e gás a partir da glicose e de outros carboidratos. São catalase positivas (com raras exceções) e oxidase negativas. A temperatura ótima de crescimento se encontra entre 35 e 37°C, no entanto, as *Salmonella* podem multiplicar-se desde 5 até 45-47°C. A pasteurização a 72°C por 15 segundos assegura sua destruição. Suportam uma faixa de pH entre 4,5 e 9,0 com um ótimo de 6,5 a 7,5.

As células dos estafilococos são esféricas e caracteristicamente se segmentam em mais de um plano, formando arranjos que lembram cachos de uvas. Gram positivos, imóveis, não esporogênicos. Catalase usualmente positiva e oxidase usualmente negativa. Quimiorganotróficos, apresentam metabolismo de carboidratos respiratório e fermentativo. São vulneráveis à lise por lisostafina e resistentes por lisozima. Predominantemente associados à pele, glândulas e mucosas de animais de sangue quente.

A contagem de bolores e leveduras é empregada, principalmente, na análise de alimentos ácidos, com pH < 4,5, alimentos parcialmente desidratados, farinhas etc., nos quais a presença elevada é indicativa de erros durante o processamento, comprometendo a vida útil do produto. Apesar de existirem muitas espécies toxigênicas, os resultados dessa contagem não visam

obtenção de informações relacionadas à saúde pública, mas sim, uma avaliação geral da qualidade do produto. Os bolores possuem aspecto cotonoso em função da presença do agrupamento de hifas que formam um micélio. Podem apresentar colônias com diversas colorações. As leveduras apresentam colônias mucóides de colorações diferentes.

### Tipos de Plaqueamentos

A contagem padrão em placas é utilizada tanto para a quantificação de grandes grupos microbianos, como aeróbios mesófilos e psicrotróficos, bolores e leveduras, clostrídios sulfito redutores, enterococos e bactérias lácticas, bem como para gêneros e espécies em particular, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*. O mecanismo básico é a inoculação da amostra homogeneizada (e suas diluições) em um meio sólido (com ágar), contido em placas de Petri, seguida da incubação das placas até crescimento visível.

Para a inoculação no meio de cultura, denominada de plaqueamento, podem ser utilizados quatro procedimentos básicos: a) o plaqueamento em profundidade (*pour plate*), b) o plaqueamento em superfície (*spread plate*), c) o plaqueamento em gotas (*drop plate*) ou d) a filtração em membrana. Os dois primeiros são os métodos mais comuns.

O método padrão de plaqueamento em profundidade tem limite de detecção de 10 UFC/g para produtos sólidos ou 1 UFC/ml para produtos líquidos. Esse processo pode ser moldado, se necessário, para limite de detecção de 1 UFC/g para produtos sólidos. Seus principais usos são em ensaios de contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de clostrídios sulfito redutores, contagem de enterobactérias, contagem de enterococos e contagem de bactérias lácticas. Apresenta algumas limitações, sendo a principal delas a necessidade de fusão do meio de cultura antes do uso. Alguns meios, suplementados com componentes sensíveis ao calor depois da esterilização, não podem ser reaquecidos para fusão do ágar antes do uso.

A principal diferença entre os plaqueamentos em superfície e os em profundidade, é que a amostra e/ou suas diluições são inoculadas diretamente na superfície do meio sólido, já distribuído em placas.

A inoculação superficial é considerada vantajosa sob alguns aspectos, visto que não expõe os microrganismos ao calor do meio fundido, permite a visualização de características morfológicas e diferenciais de colônias, facilita a transferência de colônias, permite a manipulação de meios que não podem ser fundidos depois de prontos e não exige que os meios sejam translúcidos. Sua desvantagem predominante é que o volume inoculado é limitado à capacidade de absorção de líquido pelo meio de cultura, que não permite a inoculação de mais do que 0,5 ml por placa. A técnica padrão é a inoculação de 0,1 ml/placa de cada diluição, com limite de detecção de 100 UFC/g para produtos sólidos ou 10 UFC/ml para produtos líquidos. Esse mecanismo pode ser adaptado, se necessário, para limite de detecção de 10 UFC/g para produtos

sólidos ou 1 UFC/ ml para produtos líquidos. Suas aplicações fundamentais são os ensaios de contagem total de aeróbios psicrotróficos, contagem de bolores e leveduras, contagem de *S. aureus* e contagem de *B. cereus*.

O plaqueamento em gotas é um método de inoculação em superfície, com as mesmas vantagens do plaqueamento em superfície. A diferença mais significativa é que o inóculo não é espalhado, mas sim, depositado no meio de cultura, em gotas de 0,01 ml. Como as gotas ocupam um espaço mínimo, é possível inocular, numa mesma placa, três diluições em triplicata, três gotas por diluição, tornando, assim, o método extremamente econômico, com limite de detecção de 1.000 UFC/g de produtos sólidos ou 100 UFC/ ml de produtos líquidos. Não é uma técnica rotineiramente utilizada na análise de alimentos, mas pode ser muito útil em situações que exijam a inoculação de um número grande de diluições.

A técnica de filtração em membrana é limitada à análise de amostras líquidas límpidas, sem sólidos em suspensão, que possam ser filtradas através de uma membrana de poro 0,45µm. Tem como vantagem permitir a inoculação de maiores volumes da amostra, concentrando na membrana os microrganismos presentes na quantidade inoculada. O limite de detecção é de 1 UFC por volume inoculado, sendo adequado para amostras com contagens abaixo do limite de detecção das outras técnicas. Seus principais usos são em ensaios de contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias lácticas, contagem de enterococos e contagem de coliformes totais/fecais/*E. coli* em água, refrigerantes, outros produtos líquidos e produtos sólidos que possam ser transformados numa solução límpida, como sal e açúcar, por exemplo.

### Principais Técnicas Laboratoriais

A análise microbiológica de alimentos é predominantemente cultural, visando a detecção ou a enumeração de microrganismos vivos. Em função da multiplicidade de grupos, gêneros e espécies que podem estar presentes, muitos ensaios são utilizados, que podem ser de dois tipos: ensaios qualitativos, que verificam a presença ou ausência dos microrganismos alvo em uma dada quantidade de amostra, sem quantificar, e ensaios quantitativos, que determinam a quantidade dos microrganismos alvo na amostra, geralmente por unidade de massa ou volume. Cada um desses ensaios segue procedimentos diferenciados que dependem dos microrganismos alvo, mas a maioria deles utiliza as mesmas técnicas culturais básicas de microbiologia. Essas técnicas são a detecção da presença/ausência, a contagem do NMP e a contagem padrão em placas.

Antes de iniciar qualquer umas destas técnicas laboratoriais é necessário realizar a preparação das amostras e diluições seriadas. Esta é realizada perto do bico de Bunsen faz-se o pré-enriquecimento da amostra a partir da proporção de 1:9 (uma parte de amostra para 9 partes de PW), ou seja, 25g ou 25ml da amostra adicionadas em 225ml de PW, formando assim a diluição

$10^{-1}$ ; em seguida, retira-se 1ml e transfere-se para um tubo de falcon contendo 9ml de PW para formar a diluição  $10^{-2}$ , e a partir desta, retira-se 1ml transferindo para outro tubo de PW para formar a diluição  $10^{-3}$ .

O NMP é um teste presuntivo de coliformes e é realizado partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , já mencionadas anteriormente, pipeta-se 1ml da amostra em cada um dos três tubos (triplicata) com 10ml de Caldo LST. Depois os tubos são colocados na estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  no período de 24 a 48 horas. Havendo a turbidez do meio e presença de bolhas de gás no tubo de Durham, são feitos os testes para coliformes totais e coliformes termotolerantes (*E. coli*).

Para a realização da contagem de coliformes totais, tomam-se todos os tubos de LST com produção de gás e transfere-se uma alçada para tubos de Caldo VB. Feito isso, estes são incubados a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas. Em seguida, é observado se há crescimento com produção de gás. A partir da quantidade de tubos positivos utiliza-se a tabela do NMP apropriada às diluições inoculadas para verificar a quantidade de microrganismos mais provável na amostra analisada. O número será expresso em NMP/g ou ml.

O teste confirmatório de coliformes termotolerantes (*E. coli*) é realizado a partir dos tubos de LST que deram resultado presuntivo de coliformes, é passada uma alçada dos tubos positivos para tubos de Caldo EC. Estes serão colocados em banho-maria a  $45^{\circ}\text{C}$  por 24 até 48 horas. Os tubos que após o período apresentarem turbidez e formação de bolhas de gás no tubo de Durham serão considerados positivos. A partir da quantidade de tubos positivos utiliza-se a tabela do NMP apropriada às diluições inoculadas para verificar a quantidade de microrganismos mais provável na amostra analisada. O número será expresso em NMP/g ou ml.

Após isso, é realizado a contagem de *E. coli* através do método tradicional: de cada tubo de EC positivo estria-se uma alçada da cultura em placas de Ágar EMB. As placas serão incubadas a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e observadas se há desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto, metálico ou não). Havendo colônias sugestivas, transferem-se duas colônias bem isoladas de cada placa, para tubos, estéreis e previamente preparados, de PCA inclinados e estes serão incubados a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

A partir das culturas puras em PCA, fazer coloração de Gram e inocula-se os meios testes, para a realização de provas bioquímicas. A partir da quantidade de tubos de caldo EC, estriados em EMB, positivos utiliza-se a tabela do NMP apropriada às diluições inoculadas para verificar a quantidade de microrganismos mais provável na amostra analisada. O número será expresso em NMP/g ou ml.

Na presença/ausência de *Salmonella* spp. primeiramente, faz-se o pré-enriquecimento e homogeneização da amostra. Transfere-se 25g ou 25ml da amostra para um frasco de homogeneização, previamente esterilizado e tarado, e adiciona-se 225ml de PW. Em seguida, incuba-se o frasco a  $35^{\circ}\text{C}$  por 18 a 24 horas com as tampas ligeiramente afrouxadas. Após isso,

faz-se o enriquecimento seletivo que tem por objetivo inibir a multiplicação da microbiota acompanhante e promover a elevação preferencial do número de células de *Salmonella*.

Para a realização do enriquecimento deve-se agitar delicadamente o frasco com o caldo de pré-enriquecimento e inocular 1ml da amostra em tubo contendo 10ml de Caldo SC e 0,1ml em tubo contendo 10ml de Caldo RP. Ambos os tubos são incubados a 35°C por 24 horas. Em seguida, é realizado o plaqueamento diferencial nos tubos positivos (turbidez ou mudança de cor): transfere-se uma alçada dos tubos com os caldos SC e RP para as Placas de Petri estéreis e previamente preparadas com Ágar HE e outras, com Ágar SS. Feito isso, as placas serão invertidas e incubadas a 35°C por 24 horas e é verificado se há desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella*.

No Ágar HE, as colônias típicas são transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto; já no Ágar SS, são de cor bege com centro preto. Caso haja crescimento de colônias sugestivas nos meios, será feita a confirmação preliminar das colônias típicas de *Salmonella*.

Com o auxílio de uma agulha de inoculação, é removido uma porção da massa de células, do centro da colônia típica e inoculados em tubos inclinados e estéreis, previamente preparados, com Ágares LIA e TSI. A inoculação deve ser feita por picada e estrias na rampa, fazendo uso da mesma alçada para inocular ambos os tubos. Recomenda-se submeter à confirmação preliminar pelo menos duas colônias típicas de cada placa, nos tubos de LIA e TSI. Estes devem ser incubados a 35°C por 24 horas e observar-se-á, em caso positivo, a ocorrência de reações típicas de *Salmonella*.

As reações típicas do TSI são: rampa alcalina (vermelha) e fundo ácido (amarelo), com ou sem produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do ágar); já as do LIA, são fundo e rampa alcalinos (púrpura, sem modificação da cor do meio), com ou sem produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do ágar). Após o resultado sugestivo da confirmação preliminar é necessária a realização dos testes sorológicos e bioquímicos para a confirmação definitiva.

A Contagem Padrão em Placas é a contagem de aeróbios mesófilos em placas. Nesse método é realizado o plaqueamento por profundidade, no qual a partir das diluições 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>, já mencionadas anteriormente, são retirados 1mL e colocado em cada Placa de Petri estéreis e vazias (em duplicata), abrindo as placas apenas o suficiente para inserir a pipeta, próximo ao bico de Bunsen. Logo após, adicionam-se de 15 a 20 ml de PCA, previamente fundido e resfriado a 45°C. Mistura o inóculo com o meio de cultura movimentando suavemente as placas, numa superfície plana, em movimentos na forma de oito ou circulares. Após isso, aguarda-se a completa solidificação do meio de cultura, inverte-se as placas e incuba na estufa a 35°C, onde ficam por 48 horas.

Após esse período, faz-se a contagem das colônias e os cálculos dos resultados: seleciona-se as placas com 25 a 250 colônias e estas são contadas com o auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. O número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por g ou ml da

amostra é calculado multiplicando o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada. O número será expresso em UFC/g ou ml.

Já na Contagem Padrão em Placas para aeróbios psicrotróficos é realizado o plaqueamento em superfície com o objetivo de evitar a exposição das células ao calor do ágar fundido, já que são mais sensíveis às altas temperaturas. Primeiramente, as Placas de Petri estéreis são preparadas com 15 a 20 ml de PCA. A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , já mencionadas anteriormente, são retirados 0,1 ml e colocados em cada placa previamente preparada. Em seguida, o inóculo é espalhado com uma alça de Drigalski por toda a placa, iniciando pelas placas de maior para as de menor diluição. Após a secagem completa das placas, estas devem ser invertidas e incubadas na estufa a  $7^{\circ}\text{C}$  por 10 dias ou  $17^{\circ}\text{C}$  por 16 horas seguidas de  $7^{\circ}\text{C}$  por 3 dias.

Em seguida, efetua-se a contagem das colônias e o cálculo dos resultados, seguindo as mesmas orientações descritas para o plaqueamento em profundidade, porém, multiplica-se o resultado por 10, para levar em conta o volume 10 vezes menor inoculado no plaqueamento em superfície. O número será expresso em UFC/g ou ml.

A contagem de bolores e leveduras é um método no qual é realizado o plaqueamento em superfície com o objetivo de permitir uma máxima exposição ao ar. Primeiramente, as Placas de Petri estéreis são preparadas com 15 a 20 ml de ABD. A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , já mencionadas anteriormente, são retirados 0,1 ml e colocados em cada placa previamente preparada. Em seguida, o inóculo é espalhado com uma alça de Drigalski por toda a placa, iniciando pelas placas de maior para as de menor diluição. Após a secagem completa das placas, elas são incubadas, não invertidas, a  $25^{\circ}\text{C}$  por 5 dias.

É realizado a contagem das colônias e o cálculo dos resultados seguindo as mesmas orientações descritas para o plaqueamento em profundidade, porém, recomenda-se contar placas com 10 a 150 colônias ao invés de 25 a 250 colônias. Após, multiplica-se o resultado por 10, para levar em conta o volume 10 vezes menor inoculado no plaqueamento em superfície. O número será expresso em UFC/g ou ml.

A Contagem direta em placas é utilizada para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo. Nesse método é utilizado o plaqueamento em superfície. Primeiramente, as Placas de Petri estéreis são preparadas com 15 a 20 ml de Ágar BP. A partir das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , já mencionadas anteriormente, são retirados 0,1 ml e colocados em cada placa previamente preparada. Em seguida, o inóculo é espalhado com uma alça de Drigalski por toda a placa, iniciando pelas placas de maior para as de menor diluição. Após a secagem completa das placas, as mesmas devem ser incubadas na estufa a  $35^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

Passado esse tempo, será realizado a contagem das colônias presuntivas: seleciona-se placas com 20 a 200 colônias para a contagem das colônias típicas de *S. aureus* (colônias circulares, pretas, pequenas, lisas, convexas, com bordas perfeitas, massa de células

esbranquiçadas nas bordas, rodeados por uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca).

Após a contagem será realizado a confirmação das colônias típicas: são selecionadas no mínimo 5 colônias típicas, para teste de coagulase, e havendo menos do que 5 deve selecionar todas. Em seguida, transfere-se cada colônia para um tubo de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e após transfere-se uma alçada para um tubo com Ágar Tripticase de Soja (TSA) inclinado e incubam-se, ambos os tubos, a 35°C por 24 horas.

Após a confirmação das colônias típicas é realizado o cálculo dos resultados: considerase com *S. aureus* todas as culturas com reação de coagulase de níveis 3 e 4 ou 1 e 2, porém, com termonuclease e catalase positivas, coloração de Gram positiva e formação de cocos em cachos. Em seguida, o número de UFC por g ou ml é calculado em função do número de colônias típicas contadas, diluição inoculada e percentagem de colônias confirmadas. O número será expresso em UFC/g ou ml.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, é possível concluir que as análises microbiológicas dos alimentos são de extrema importância, visto que, se não forem realizadas, podem acometer a população provocando as DTA's e, assim, podendo resultar, em alguns casos, em óbito.

É fundamental ter conhecimento acerca dos alimentos e água que estão sendo consumidos, levando-se em conta o local em que foram adquiridos, e em caso de contrair uma DTA, deve ser feita a análise do alimento que a provocou. Para os comerciantes, esta análise deve ser realizada sempre antes de expor os produtos à venda, a fim de evitar que essas enfermidades alimentares ocorram.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, S. M. B. *et al.* Panorama dos Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil no Período de 2009 a 2019. **Recima21**. v. 02, n. 11, 2021.

ANVISA. Resolução 35, de 17 de junho de 2009. Dispõe sobre a obrigatoriedade de instruções de conservação e consumo na rotulagem de ovos e dá outras providências. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. 2009. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0035\\_17\\_06\\_2009.pdf/72add6d3c538-4e03-88a1-fb7d763113f4](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0035_17_06_2009.pdf/72add6d3c538-4e03-88a1-fb7d763113f4)>. Acesso: 18 de agosto de 2022.

BRASIL. Resolução Rdc nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. 2004. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25C3%2587%25C3%2583O->

DC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b >. Acesso: 21 de agosto de 2022.

CARVALHO, I. T. Microbiologia dos alimentos. **Técnico em alimentos (Programa Escola Técnica Aberta do Brasil) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE**. 2010.

FOOD SAFETY BRAZIL. Análise microbiológica de alimentos. **Importância do plano de amostragem**. 2014. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/analise-microbiologica-dealimentos-importancia-do-plano-de-amostragem/> >. Acesso: 17 de agosto de 2022.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo, v.1, 2º ed., 2004.

MENDES, R. A. Contaminação por *Bacillus cereus* em superfícies de equipamentos e utensílios em unidade de alimentação e nutrição. **Cienc. Saude Colet.** v. 16. 2011.

NUNES, M. M. Qualidade microbiológica de alimentos prontos para o consumo no distrito federal e avaliação de risco quantitativo da exposição da população brasileira a *Staphylococcus aureus* pelo consumo de queijo minas frescal. 2013. 130 f. **Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília-DF**. 2013.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo, 5º ed., 2017.