

MANUAL DE MÉTODOS DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS E ÁGUA

5ª edição

NEUSELY DA SILVA
VALÉRIA CHRISTINA AMSTALDEN JUNQUEIRA
NELIANE FERRAZ DE ARRUDA SILVEIRA
MARTA HIROMI TANIWAKI
RENATO ABEILAR ROMEIRO GOMES
MARGARETE MIDORI OKAZAKI

Blucher

Neusely da Silva
Valéria Christina Amstalden Junqueira
Neliane Ferraz de Arruda Silveira
Marta Hiromi Taniwaki
Renato Abeilar Romeiro Gomes
Margarete Midori Okazaki

Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água

5ª edição

Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água

© 2017 Neusely da Silva, Valéria Christina Amstalden Junqueira, Neliane Ferraz de Arruda Silveira, Marta Hiromi Taniwaki, Renato Abeilar Romeiro Gomes, Margarete Midori Okazaki
Editora Edgard Blücher Ltda.

Imagem da capa: iStockphoto

Blucher

Rua Pedroso Alvarenga, 1 245, 4º andar
04531-934 – São Paulo – SP – Brasil
Tel.: 55 11 3078-5366
contato@blucher.com.br
www.blucher.com.br

Segundo o Novo Acordo Ortográfico, conforme 5. ed.
do *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*,
Academia Brasileira de Letras, março de 2009.

É proibida a reprodução total ou parcial por quaisquer
meios sem autorização escrita da editora.

Todos os direitos reservados pela Editora
Edgard Blücher Ltda.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Angélica Ilacqua CRB-8/7057

Silva, Neusely da.

**Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e
água** / Neusely da Silva... (*et al.*). 5ª ed. – São Paulo : Blucher, 2017.

560 p. : il.
Bibliografia

ISBN: 978-85-212-1225-6

1. Microbiologia 2. Água – Análise 3. Alimentos – Microbiologia
4. Alimentos – Análise I. Título

17-0849

CDD-628.161

Índice para catálogo sistemático internacional

1. Água – Análise microbiológica
2. Alimentos – Análise microbiológica

Conteúdo

Capítulo 1.

Coleta, transporte e estocagem de amostras para análise

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 1.1. Introdução | 1 |
| Lote | 1 |
| Amostra de lote e unidade de amostra | 1 |
| Planos de amostragem de lotes | 2 |
| Unidade analítica | 2 |
| 1.2. Material necessário | 3 |
| 1.3. Coleta de amostras para análise | 3 |
| 1.3.1. (revisado) Seleção e preparação de frascos para coleta de alimentos acondicionados em embalagens não individuais | 3 |
| 1.3.2. Procedimentos para a coleta de alimentos acondicionados em embalagens não individuais | 4 |
| 1.3.3. Coleta de alimentos envolvidos em casos de doenças de origem alimentar (DTAs) | 5 |
| 1.3.4. (revisado) Coleta de amostras de água | 5 |
| 1.4. Transporte e estocagem de amostras até o momento da análise | 6 |
| 1.4.1. Transporte e estocagem de alimentos com baixa atividade de água | 6 |
| 1.4.2. Transporte e estocagem de alimentos congelados | 6 |
| 1.4.3. (revisado) Transporte e estocagem de alimentos refrigerados | 6 |
| 1.4.4. Transporte e estocagem de alimentos comercialmente estéreis em embalagens herméticas | 8 |
| 1.4.5. (revisado) Transporte e estocagem de amostras de água | 8 |
| 1.5. Recepção de amostras para análise | 8 |
| 1.6. Referências | 9 |

Capítulo 2.

Preparação de amostras para análise

| | |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 2.1. Introdução | 11 |
| 2.2. Material necessário | 12 |
| 2.3. Homogeneização da amostra e retirada da unidade analítica | 13 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.1. Procedimento para a homogeneização e retirada da unidade analítica de produtos líquidos | 14 |
| 2.3.2. Procedimento para a homogeneização e retirada da unidade analítica de produtos sólidos ou líquidos concentrados | 14 |
| 2.3.3. Procedimento para a retirada da unidade analítica pela técnica do esfregão de superfície | 15 |
| 2.3.3.1. (revisado) Amostragem com “swabs” | 15 |
| 2.3.3.2. Amostragem com esponjas | 17 |
| 2.3.4. Procedimento para a retirada da unidade analítica pela técnica da lavagem superficial | 17 |
| 2.3.4.1. Procedimento para a lavagem de carcaças de aves | 17 |
| 2.3.4.2. Procedimento para a lavagem de outros alimentos | 18 |
| 2.3.4.3. Procedimento para a lavagem de embalagens | 18 |
| 2.3.5. Guarda de contra-amostras | 18 |
| 2.4. (revisado) Preparo da 1ª diluição da unidade analítica | 19 |
| Diluentes para os ensaios de presença/ausência | 19 |
| Diluentes para os ensaios que requeiram tratamento diferenciado da amostra | 19 |
| Diluentes para os ensaios gerais de quantificação | 19 |
| Como obter uma diluição inicial de 1:10 (10^{-1}) | 19 |
| Como obter uma diluição inicial diferente de 1:10 | 19 |
| Procedimento para o preparo da primeira diluição de amostras líquidas | 19 |
| Procedimento para o preparo da primeira diluição de amostras sólidas ou líquidos concentrados | 20 |
| Procedimento para o preparo da primeira diluição de amostras obtidas por esfregão de superfície ou por lavagem superficial | 20 |

| | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5. (revisado) Diluição decimal seriada da amostra | 20 | o) Produtos lácteos fermentados | 27 |
| Como obter a segunda diluição (10^{-2}) | 21 | p) Caseína e caseinatos | 28 |
| Como obter as diluições subsequentes | 21 | q) Paracaseína com problemas de solubilidade | 28 |
| 2.6. Referências | 21 | r) Moluscos (bivalves e gastrópodes) e ouriços do mar | 28 |
| Anexo 2.1. (revisado) Procedimentos para homogeneização do conteúdo e retirada da unidade analítica de amostra de diferentes tipos de alimentos | 23 | s) Pepinos do mar (<i>Holothuroidea</i>) e tunicados ou ascídias (<i>Ascidiacea</i>) | 28 |
| a) Produtos em pó | 23 | | |
| b) Produtos pastosos ou moídos | 23 | | |
| c) Iogurtes com pedaços de frutas | 23 | | |
| d) Queijos | 23 | | |
| e) Produtos muito duros | 23 | | |
| f) Peças de alimentos sólidos | 23 | | |
| g) Ovos em casca | 23 | | |
| h) Cortes de carne para análise de contaminação não superficial | 24 | | |
| i) Moluscos bivalves (ostra, mexilhão, lingueirão, berbigão, conchilha, ameijoia) | 24 | | |
| j) Moluscos gastrópodes (caracol, caramujo, búzio, lapa, apa, lesma) | 24 | | |
| k) Moluscos cefalópodes (polvo, lula) | 24 | | |
| l) Caranguejos e lagostas | 24 | | |
| m) Ouriços do mar | 24 | | |
| Anexo 2.2. (revisado) Casos especiais em que há variações na unidade analítica e/ou diluição e/ou diluentes recomendados para a preparação da primeira diluição de amostras de diferentes tipos de alimentos | 25 | | |
| a) Líquidos com baixa contaminação | 25 | | |
| b) Alimentos gordurosos | 25 | | |
| c) Pós de baixa solubilidade com tendência à formação de grumos | 25 | | |
| d) Espessantes ou produtos com antimicrobianos naturais | 25 | | |
| e) Gelatina | 26 | | |
| f) Produtos ácidos | 26 | | |
| g) Farinhas, cereais, ração animal | 26 | | |
| h) Cacau e chocolate | 26 | | |
| i) Clara de ovo líquida | 26 | | |
| j) Produtos fermentados contendo microrganismos vivos destinados à quantificação da microbiota contaminante (exceto probióticos) | 26 | | |
| k) Produtos lácteos em pó (leite, soro de leite, creme de leite, lactose) | 27 | | |
| l) Manteiga | 27 | | |
| m) Produtos lácteos congelados | 27 | | |
| n) Queijos | 27 | | |
| | | Capítulo 3. | |
| | | Técnicas básicas de contagem de microrganismos em placas | |
| | | 3.1. Introdução | 29 |
| | | 3.2. Plaqueamento em profundidade (<i>pour plate</i>) | 30 |
| | | 3.2.1. Material requerido nas análises | 30 |
| | | 3.2.2. Procedimento | 30 |
| | | 3.3. Plaqueamento em superfície (<i>spread plate</i>) | 32 |
| | | 3.3.1. Material requerido nas análises | 32 |
| | | 3.3.2. (revisado) Procedimento | 32 |
| | | 3.4. Plaqueamento em gotas (<i>drop plate</i>) | 33 |
| | | 3.4.1. Material requerido nas análises | 33 |
| | | 3.4.2. Procedimento | 33 |
| | | 3.5. Filtração em membrana | 34 |
| | | 3.5.1. Material requerido nas análises | 34 |
| | | 3.5.2. Procedimento | 34 |
| | | 3.6. Contagem das colônias e cálculo dos resultados segundo a APHA | 36 |
| | | 3.6.1. Plaqueamento em profundidade | 36 |
| | | 3.6.1.1. Cálculo dos resultados na situação padrão | 36 |
| | | 3.6.1.2. (revisado) Regras para o cálculo em situações não usuais | 38 |
| | | 3.6.1.3. Cálculo dos resultados para amostras preparadas pela técnica do esfregão de superfície (“swabs” ou esponjas) | 39 |
| | | 3.6.1.4. Cálculo dos resultados para amostras preparadas pela técnica da lavagem superficial | 41 |
| | | 3.6.2. Plaqueamento em superfície | 41 |
| | | 3.6.3. Plaqueamento em gotas | 42 |
| | | 3.6.4. Filtração em membrana | 42 |
| | | 3.7. (revisado) Contagem das colônias e cálculo dos resultados segundo a ISO | 42 |
| | | 3.7.1. Exigências gerais para o cálculo dos resultados | 42 |
| | | 3.7.2. Regras gerais para o cálculo dos resultados | 43 |
| | | 3.7.3. Regras para o cálculo em situações não usuais | 45 |
| | | 3.8. Referências | 47 |

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Anexo 3.1. (novo) Limite de concordância aceitável entre as contagens de colônias obtidas em placas de duas diluições subsequentes (ISO 14461-2:2005) | 48 | Teste de malonato | 66 |
| Anexo 3.2. (novo) Limite de concordância aceitável entre as contagens de colônias obtidas em um par de placas de uma duplicata (ISO 14461-2:2005) | 50 | Teste de oxidação/fermentação (O/F) | 66 |
| Capítulo 4. | | Teste de oxidase. | 67 |
| Técnicas básicas de contagem de microrganismos pelo número mais provável (NMP) | | Teste de redução do nitrato | 67 |
| 4.1. Introdução | 51 | Teste de urease | 67 |
| 4.2. Teste de diluição múltipla | 52 | Teste de vermelho de metila (VM) | 68 |
| 4.2.1. Material requerido nas análises. | 53 | Teste de Voges-Proskauer (VP) | 68 |
| 4.2.2. Procedimento | 53 | 5.2. Material requerido nas análises | 68 |
| 4.3. Teste de diluição única. | 54 | 5.3. Procedimento | 68 |
| 4.3.1. Material requerido nas análises. | 54 | a) Pré-enriquecimento | 68 |
| 4.3.2. Procedimento | 55 | Composição de amostras a seco | 68 |
| 4.4. Cálculo dos resultados | 55 | b) Enriquecimento seletivo | 69 |
| 4.4.1. Cálculo dos resultados do teste de diluição múltipla | 55 | Composição úmida de amostras em ensaios com duas etapas de enriquecimento | 69 |
| 4.4.1.1. Cálculo usando as tabelas de NMP (para diluições decimais) | 55 | Composição úmida em ensaios com uma única etapa de enriquecimento | 69 |
| 4.4.1.2. Cálculo usando a fórmula de Thomas (para diluições não decimais) | 57 | c) Plaqueamento diferencial | 69 |
| 4.4.1.3. Cálculo dos resultados para amostras preparadas pela técnica do esfregão de superfície ou da lavagem superficial | 57 | c.1) Técnica de inoculação por estrias de esgotamento para obter culturas puras | 69 |
| 4.4.2. Cálculo dos resultados do teste de diluição única | 57 | d) Seleção de colônias e repique de culturas para confirmação | 70 |
| 4.5. Referências. | 58 | d.1) Técnica de repique de culturas puras a partir de colônias isoladas em placas | 70 |
| Anexo 4.1. Tabelas de NMP | 59 | e) Testes de confirmação | 71 |
| | | e.1) (corrigido) Coloração de Gram (método de Hucker) | 71 |
| | | e.2) (novo) Teste do KOH para confirmação da coloração de Gram duvidosa (Gregersen, 1978). | 71 |
| | | e.3) Coloração de esporos (método de Schaeffer-Fulton). | 71 |
| | | e.4) (corrigido) Coloração de esporos (método de Ashby) | 72 |
| | | e.5) Montagens úmidas para observação microscópica a fresco | 72 |
| | | 5.4. Referências. | 72 |
| Capítulo 5. | | Capítulo 6. | |
| Técnicas básicas de detecção da presença/ausência de microrganismos | | Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas | |
| 5.1. Introdução | 63 | 6.1. Introdução | 73 |
| Enriquecimento | 63 | 6.1.1. (revisado) Significado da contagem total de aeróbios mesófilos | 73 |
| Isolamento em meios sólidos (plaqueamento diferencial) | 64 | 6.1.2. (revisado) Definição de psicrotróficos | 74 |
| Confirmação | 65 | 6.1.3. (revisado) Comentários sobre os métodos de análise | 74 |
| Teste de catalase | 65 | 6.2. (revisado) Método de plaqueamento APHA 08:2015 para contagem total de aeróbios mesófilos em alimentos. | 77 |
| Teste de citrato | 65 | | |
| Testes de descarboxilação de aminoácidos | 65 | | |
| Teste de fenilalanina deaminase | 65 | | |
| Testes de fermentação de carboidratos | 66 | | |
| Teste de indol | 66 | | |

| | | | |
|--------------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------------|-----|
| 6.2.1. Material requerido para a análise | 77 | 7.2.b. (novo) Métodos de plaqueamento | |
| 6.2.2. Procedimento | 77 | ISO 21527-1:2008 e ISO 21527-2:2008 | |
| 6.2.2.1. Plaqueamento em profundidade. | 77 | para contagem de bolores e leveduras | |
| 6.2.2.2. Plaqueamento em superfície | 79 | em alimentos | 95 |
| 6.2.2.3. Filtração em membrana | 79 | 7.2.b.1. Material requerido para a análise. | 95 |
| 6.3. (revisado) Métodos de plaqueamento em | | 7.2.b.2. Procedimento | 96 |
| Petrifilm™ AOAC 986.33/989.10/990.12 | | 7.3. (revisado) Método de plaqueamento | |
| para contagem total de aeróbios mesófilos | | APHA 13:2015 para contagem de fungos | |
| em alimentos | 80 | psicotróficos em alimentos. | 98 |
| 6.3.1. Material requerido para a análise | 80 | 7.4. (revisado) Método de plaqueamento | |
| 6.3.2. Procedimento | 81 | APHA 22.4:2015 para contagem de bolores | |
| 6.4. (revisado) Método de plaqueamento | | termorresistentes em alimentos. | 98 |
| APHA 13.61:2015 para contagem de bactérias | | 7.4.1. Material requerido para a análise | 98 |
| aeróbias psicotróficas em alimentos. | 81 | 7.4.2. Procedimento | 98 |
| 6.4.1. Material requerido para a análise | 81 | 7.5. Métodos de Pitt & Hocking:2009 para | |
| 6.4.2. Procedimento | 82 | plaqueamento ou presença/ausência de | |
| 6.5. (novo) Métodos de plaqueamento | | leveduras resistentes aos conservantes | |
| ISO 4833-1:2013 e ISO 4833-2:2013/Corr.1:2014 | | em alimentos | 102 |
| para contagem total de aeróbios mesófilos | | 7.5.1. Material requerido para a análise | 102 |
| em alimentos | 83 | 7.5.2. Procedimento | 103 |
| 6.5.1. Material requerido para a análise | 83 | 7.5.2.1. Método qualitativo de detecção | |
| 6.5.2. Procedimento | 83 | com enriquecimento | 103 |
| 6.6. (novo) Métodos de plaqueamento | | 7.5.2.2. Método de contagem direta em | |
| ISO 6222:1999 para contagem total | | placas. | 104 |
| de aeróbios mesófilos em água | 85 | 7.6. (revisado) Método de plaqueamento ou | |
| 6.6.1. Material requerido para a análise | 85 | filtração em membrana APHA 17.3:2015 | |
| 6.6.2. Procedimento | 85 | para contagem de leveduras osmofílicas | |
| 6.7. Referências. | 86 | em alimentos | 104 |
| | | 7.6.1. Material requerido para a análise | 105 |
| | | 7.6.2. Procedimento | 105 |
| | | 7.6.2.1. Método de filtração em membrana | 105 |
| | | 7.6.2.2. Método de plaqueamento em | |
| | | profundidade | 105 |
| | | 7.7. Referências. | 106 |
| Capítulo 7. | | | |
| Contagem de bolores e leveduras | | Capítulo 8. | |
| 7.1. Introdução | 87 | Contagem de enterobactérias | |
| 7.1.1. (revisado) Comentários sobre os métodos de | | 8.1. Introdução | 107 |
| análise de bolores e leveduras totais | 88 | 8.1.1. Taxonomia. | 107 |
| 7.1.2. Fungos psicotróficos | 89 | 8.1.2. Comentários sobre os métodos de | |
| 7.1.3. (revisado) Bolores termorresistentes | 89 | análise | 108 |
| 7.1.4. Leveduras resistentes a conservantes | 90 | 8.2. (revisado) Método de plaqueamento | |
| <i>Zygosaccharomyces bailii</i> | 90 | APHA 9.62:2015 para contagem de | |
| <i>Zygosaccharomyces bisporus</i> | 91 | enterobactérias em alimentos | 108 |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | 91 | 8.2.1. Material requerido para a análise | 108 |
| <i>Candida krusei</i> | 91 | 8.2.2. Procedimento | 109 |
| <i>Pichia membranaefaciens</i> | 91 | 8.3. (revisado) Método do NMP | |
| 7.1.5. Leveduras osmofílicas | 92 | APHA 9.61:2015 para contagem | |
| <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> | 92 | de enterobactérias em alimentos | 110 |
| 7.2.a. (revisado) Método de plaqueamento | | 8.3.1. Material requerido para a análise | 110 |
| APHA 21:2015 para contagem de bolores e | | | |
| leveduras em alimentos. | 93 | | |
| 7.2.a.1. Material requerido para a análise. | 93 | | |
| 7.2.a.2. Procedimento | 93 | | |

| | | | |
|--------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------|-----|
| 8.3.2. Procedimento | 110 | 9.6.2. Procedimento | 132 |
| 8.4. (revisado) Método do Petrifilm™ | | 9.7. (revisado) Método do NMP | |
| AOAC 2003.1:2016 para contagem de | | AOAC 991.15:2016 (substrato | |
| enterobactérias em alimentos | 112 | cromogênico Colilert®) para contagem | |
| 8.4.1. Material requerido para a análise | 112 | de coliformes totais e <i>E. coli</i> em água. | 134 |
| 8.4.2. Procedimento | 112 | 9.7.1. Material requerido para a análise | 134 |
| 8.5. (novo) Método de plaqueamento | | 9.7.2. Procedimento | 134 |
| ISO 21528-2:2004 para contagem de | | 9.8 (novo) Método de filtração ISO 9308-1:2014 | |
| enterobactérias em alimentos | 113 | para contagem de coliformes totais e | |
| 8.5.1. Material requerido para a análise | 113 | <i>E. coli</i> em água | 135 |
| 8.5.2. Procedimento | 113 | 9.8.1. Material requerido para a análise | 135 |
| 8.6. Referências | 116 | 9.8.2. Procedimento | 135 |
| | | 9.9. Referências | 137 |
| Capítulo 9. | | Capítulo 10. | |
| Contagem de coliformes totais, | | <i>Staphylococcus aureus</i> | |
| coliformes termotolerantes e | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | | | |
| 9.1. Introdução | 117 | 10.1. Introdução | 139 |
| 9.1.1. Definição de coliformes totais | 117 | 10.1.1 Taxonomia | 139 |
| 9.1.2. Definição de coliformes | | 10.1.1.1. (revisado) O gênero | |
| termotolerantes | 118 | <i>Staphylococcus</i> | 139 |
| 9.1.3. <i>E. coli</i> | 118 | 10.1.1.2. (revisado) Os estafilococos | |
| 9.1.4. Aplicação como indicadores | 118 | coagulase positivos | 140 |
| 9.1.5. (revisado) Comentários sobre os | | 10.1.1.3. Os estafilococos produtores de | |
| métodos de análise | 119 | enterotoxinas | 140 |
| 9.2. (revisado) Métodos do NMP APHA 9:2015 e | | 10.1.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i> | 140 |
| APHA/AWWA/WEF 9221:2012 | | 10.1.2. Epidemiologia | 142 |
| para contagem de coliformes totais/coliformes | | 10.1.2.1. As enterotoxinas de <i>S. aureus</i> (SEs) ... | 142 |
| termotolerantes/ <i>E. coli</i> em água e alimentos. . | 121 | 10.1.2.2. A doença de origem alimentar | 143 |
| 9.2.1. Material requerido para a análise | 121 | 10.1.3. Comentários sobre os métodos de | |
| 9.2.2. Procedimento | 121 | análise | 144 |
| 9.3. (revisado) Método de plaqueamento | | 10.2. (revisado) Método de plaqueamento | |
| APHA:2015 para contagem de coliformes | | APHA 39.63:2015 para contagem de | |
| totais em alimentos | 127 | <i>Staphylococcus aureus</i> em alimentos | 145 |
| 9.3.1. Material requerido para a análise | 127 | 10.2.1. Material requerido para a análise | 145 |
| 9.3.2. Procedimento | 127 | 10.2.2. Procedimento | 146 |
| 9.4. (revisado) Método do NMP AOAC 992.30 | | 10.3. (revisado) Método do NMP | |
| (ColiComplete™) para contagem de | | APHA 39.62:2015 para <i>Staphylococcus</i> | |
| coliformes totais e <i>E. coli</i> em alimentos | 129 | <i>aureus</i> em alimentos | 149 |
| 9.4.1. Material requerido para a análise | 129 | 10.3.1. Material requerido para a análise | 149 |
| 9.4.2. Procedimento | 129 | 10.3.2. Procedimento | 149 |
| 9.5 (revisado) Método do Petrifilm™ (AOAC) | | 10.4. (revisado) Método de presença/ausência | |
| para contagem de coliformes totais e | | APHA 39.61:2015 para <i>Staphylococcus</i> | |
| <i>E. coli</i> em alimentos | 130 | <i>aureus</i> em alimentos | 151 |
| 9.5.1. Material requerido para a análise | 130 | 10.4.1. Material requerido para a análise | 151 |
| 9.5.2. Procedimento | 130 | 10.4.2. Procedimento | 151 |
| 9.6. Método do NMP ISO 7251:2005 para | | 10.5. (novo) Método de plaqueamento | |
| contagem de coliformes termotolerantes e | | ISO 6888-1:1999/Amd 1:2003 para | |
| <i>E. coli</i> presuntiva em alimentos | 132 | contagem de estafilococos coagulase | |
| 9.6.1. Material requerido para a análise | 132 | positivos em alimentos | 153 |
| | | 10.5.1. Material requerido para a análise | 153 |

10.5.2. Procedimento 153

10.6. (novo) Método do NMP
 APHA/AWWA/WEF:2012 para
Staphylococcus aureus em água 156

10.6.1. Material requerido para a análise 156

10.6.2. Procedimento 156

10.7. Referências. 156

Capítulo 11.
Bacillus cereus

11.1. Introdução 159

11.1.1. (revisado) Taxonomia. 159

11.1.1.1. O grupo *Bacillus cereus* 159

Bacillus anthracis 160

Bacillus thuringiensis 160

Bacillus mycoides 160

Bacillus pseudomycooides. 160

Bacillus weihenstephanensis. 160

Bacillus cytotoxicus. 160

11.1.1.2. A espécie *Bacillus cereus* 160

11.1.2. (revisado) Epidemiologia. 162

11.1.3. Comentários sobre os métodos de
 análise 163

11.2. (revisado) Método de plaqueamento
 APHA 31.61:2015 para contagem de
Bacillus cereus em alimentos 163

11.2.1. Material requerido para a análise 164

11.2.2. Procedimento 164

11.3. (revisado) Método do NMP
 APHA 31.62:2015 para contagem de
Bacillus cereus em alimentos 169

11.3.1. Material requerido para a análise 169

11.3.2. Procedimento 169

11.4. (novo) Método de plaqueamento
 ISO 7932:2004 para contagem presuntiva
 de *Bacillus cereus* em alimentos. 169

11.4.1. Material requerido para a análise 171

11.4.2. Procedimento 171

11.5. Referências. 173

Capítulo 12.
Clostrídios sulfito redutores e
Clostridium perfringens

12.1. Introdução 175

12.1.1. (revisado) Taxonomia. 175

Clostridium perfringens 175

Clostrídios sulfito redutores a 46 °C 176

12.1.2. (revisado) Epidemiologia. 176

12.1.3. (revisado) Comentários sobre os
 métodos de análise 178

12.2. (revisado) Método de plaqueamento
 APHA 33.72:2015 para contagem de
 clostrídios sulfito redutores e *Clostridium*
perfringens em alimentos 179

12.2.1. Material requerido para a análise 179

12.2.2. Procedimento 179

12.3. (revisado) Método de presença/ausência
 APHA 33.71:2015 para *Clostridium*
perfringens em alimentos 183

12.3.1. Material requerido para a análise 183

12.3.2. Procedimento 183

12.4. Método do NMP ISO 6461-1:1986 para
 esporos de clostrídios sulfito redutores em água 183

12.4.1. Material requerido para a análise 183

12.4.2. Procedimento 183

12.5. (novo) Método de filtração em membrana
 ISO 14189:2013 para contagem de
Clostridium perfringens em água 186

12.5.1. Material requerido para a análise 186

12.5.2. Procedimento 186

12.6. (novo) Método de plaqueamento
 ISO 7937:2004 para contagem de
Clostridium perfringens em alimentos 188

12.6.1. Material requerido para a análise 189

12.6.2. Procedimento 189

12.7. (novo) Método de filtração
 ISO 6461-2:1986 para contagem de
 esporos de clostrídios sulfito redutores
 em água 192

12.7.1. Material requerido para a análise 192

12.7.2. Procedimento 192

12.8. Referências. 194

Capítulo 13.
Contagem de enterococos

13.1. Introdução 195

13.1.1. (revisado) Taxonomia. 195

13.1.1.1. *Streptococcus* fecais. 195

13.1.1.2. *Enterococcus* 197

13.1.1.3. Diferenciação entre *Enterococcus*
 e *Streptococcus* fecais 198

13.1.2. (revisado) Comentários sobre os
 métodos de análise 198

13.2. (revisado) Método de plaqueamento
 APHA 10.5:2015 para contagem de
 enterococos em alimentos 199

13.2.1. Material requerido para a análise 200

13.2.2. Procedimento 200

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 13.3. (revisado) Método do NMP APHA 10.2:2015 para contagem de enterococos em alimentos | 201 |
| 13.3.1. Material requerido para a análise | 201 |
| 13.3.2. Procedimento | 201 |
| 13.4. (revisado) Método de filtração em membrana APHA/AWWA/WEF 9230C.3c:2012 para contagem de enterococos em água | 202 |
| 13.4.1. Material requerido para a análise | 203 |
| 13.4.2. Procedimento | 203 |
| 13.5. (novo) Método de filtração em membrana ISO 7899-2:2000 para contagem de enterococos em água | 205 |
| 13.5.1. Material requerido para a análise | 205 |
| 13.5.2. Procedimento | 205 |
| 13.6. Referências. | 207 |
| | |
| Capítulo 14. | |
| Contagem de bactérias lácticas | |
| 14.1. (revisado) Introdução | 209 |
| <i>Carnobacterium</i> | 209 |
| <i>Enterococcus</i> | 211 |
| <i>Fructobacillus</i> | 211 |
| <i>Lactobacillus</i> | 211 |
| <i>Lactococcus</i> | 212 |
| <i>Leuconostoc</i> | 213 |
| <i>Oenococcus</i> | 213 |
| <i>Pediococcus</i> | 214 |
| <i>Streptococcus</i> | 214 |
| <i>Tetragenococcus</i> | 215 |
| <i>Vagococcus</i> | 215 |
| <i>Weissella</i> | 216 |
| Comentários sobre os métodos de análise. | 216 |
| 14.2. (revisado) Métodos de plaqueamento APHA 19.52:2015 para contagem de bactérias lácticas em alimentos | 219 |
| 14.2.1. Material requerido para a análise | 220 |
| 14.2.2. Procedimento | 220 |
| 14.3. (revisado) Métodos de NMP APHA 19.526:2015 e APHA 19.524:2015 para contagem de bactérias lácticas em alimentos | 221 |
| 14.3.1. Material requerido para a análise | 221 |
| 14.3.2. Procedimento APHA 19.526:2015 utilizando o Caldo MRS | 222 |
| 14.3.3. Procedimento APHA 19.524:2015 utilizando o Caldo Rogosa SL. | 222 |
| 14.4. (novo) Método de plaqueamento ISO 15214:1998 para contagem de bactérias lácticas em alimentos | 225 |
| 14.4.1. Material requerido para a análise | 225 |
| 14.4.2. Procedimento | 225 |
| 14.5. Referências. | 227 |
| | |
| Capítulo 15. | |
| <i>Campylobacter</i> | |
| 15.1. Introdução | 229 |
| 15.1.1. (revisado) Taxonomia. | 229 |
| 15.1.1.1. <i>Campylobacter</i> | 229 |
| 15.1.1.2. <i>Campylobacter</i> termotolerantes. | 230 |
| 15.1.2. (revisado) Epidemiologia. | 230 |
| 15.1.3. (revisado) Comentários sobre os métodos de análise | 232 |
| 15.2. Método presença/ausência ISO 10272-1:2006. | 234 |
| 15.2.1. Material requerido para a análise | 235 |
| 15.2.2. Procedimento | 235 |
| 15.3. Referências. | 239 |
| | |
| Capítulo 16. | |
| <i>Cronobacter</i> | |
| 16.1. Introdução | 241 |
| 16.1.1. Taxonomia. | 241 |
| <i>Cronobacter</i> Iversen <i>et al.</i> 2008, gen. nov. | 241 |
| Características nutricionais e de crescimento | 241 |
| 16.1.2. (revisado) Epidemiologia. | 243 |
| 16.1.3. (revisado) Ecologia | 244 |
| 16.1.4. Métodos de análise | 247 |
| 16.2. Método de presença/ausência ISO 22964:2006 | 247 |
| 16.2.1. Material requerido para a análise | 247 |
| 16.2.2. Procedimento | 248 |
| 16.3. Referências. | 251 |
| | |
| Capítulo 17. | |
| <i>Escherichia coli</i> O157:H7 | |
| 17.1. (revisado) Introdução | 253 |
| 17.1.1. Taxonomia. | 253 |
| 17.1.2. Epidemiologia. | 254 |
| 17.1.3. Comentários sobre os métodos de análise | 257 |
| 17.2. (revisado) Método BAM/FDA:2016 para presença/ausência de <i>E. coli</i> O157:H7 em alimentos | 258 |
| 17.2.1. Material requerido para a análise | 258 |
| 17.2.2. Procedimento | 259 |
| 17.3. Referências. | 262 |

Capítulo 18.***Listeria monocytogenes***

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 18.1. (revisado) Introdução | 265 |
| 18.1.1. Taxonomia | 265 |
| 18.1.2. Epidemiologia | 268 |
| 18.1.3. Comentários sobre os métodos de análise | 269 |
| 18.1.3.1 Os métodos de detecção (presença/ausência) | 269 |
| 18.1.3.2. Os métodos de contagem | 271 |
| 18.1.3.3. Os “kits” analíticos | 271 |
| 18.1.3.4. Cuidados especiais na realização das análises | 271 |
| 18.2. (revisado) Método FDA/BAM.10:2016 para detecção ou contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> em alimentos | 273 |
| 18.2.1. Material requerido para a análise | 273 |
| 18.2.2. Procedimento | 273 |
| 18.3. (revisado) Método USDA/MLG 8.10:2017 para detecção ou contagem (NMP) de <i>Listeria monocytogenes</i> em carnes/aves/ovos | 279 |
| 18.3.1. Material requerido para a análise | 279 |
| 18.3.2. Procedimento | 280 |
| 18.4. (corrigido) Método de plaqueamento ISO 11290-2:1998/Amendment 1:2004 para contagem de <i>L. monocytogenes</i> em alimentos | 283 |
| 18.4.1. Material requerido para a análise | 283 |
| 18.4.2. Procedimento | 283 |
| 18.5. Método ISO 11290-1:1996/Amendment 1:2004 para presença ou ausência de <i>L. monocytogenes</i> em alimentos .. | 287 |
| 18.5.1. Material requerido para a análise | 287 |
| 18.5.2. Procedimento | 287 |
| 18.6. Referências | 290 |

Capítulo 19.***Salmonella***

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 19.1. Introdução | 291 |
| 19.1.1. (revisado) Classificação taxonômica de <i>Salmonella</i> | 291 |
| 19.1.2. Classificação sorológica de <i>Salmonella</i> | 293 |
| Os antígenos somáticos | 293 |
| Os antígenos capsulares | 294 |
| Os antígenos flagelares “H” | 294 |
| O esquema de White-Kauffmann-Le Minor .. | 295 |
| A nomenclatura dos sorotipos | 295 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Os sorotipos mais comuns | 295 |
| 19.1.3. Características bioquímicas de <i>Salmonella</i> | 296 |
| 19.1.4. (revisado) Epidemiologia | 296 |
| 19.1.5. Comentários sobre os métodos tradicionais de análise de <i>Salmonella</i> | 298 |
| 19.1.6. Comentários sobre os métodos alternativos de análise de <i>Salmonella</i> | 300 |
| 19.1.7. Composição de amostras para a análise | 301 |
| Composição a seco | 301 |
| Composição úmida | 301 |
| 19.2. (corrigido) Método ISO 6579 para presença/ausência de <i>Salmonella</i> em alimentos | 301 |
| 19.2.1. Material requerido para a análise | 301 |
| 19.2.2. Procedimento | 301 |
| 19.3. (revisado) Método BAM/FDA:2016 para presença/ausência de <i>Salmonella</i> em alimentos | 307 |
| 19.3.1. Material requerido para a análise | 307 |
| 19.3.2. Procedimento | 307 |
| 19.4. (revisado) Método MLG/FSIS/USDA:2017 para presença/ausência ou NMP de <i>Salmonella</i> em alimentos | 317 |
| 19.4.1. Material requerido para a análise | 317 |
| 19.4.2. Procedimento | 318 |
| 19.5. Referências | 323 |

Capítulo 20.***Vibrios patogênicos***

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 20.1. Introdução | 325 |
| 20.1.1. Taxonomia | 325 |
| 20.1.2. (revisado) Epidemiologia | 329 |
| 20.1.2.1. <i>V. cholerae</i> | 329 |
| 20.1.2.2. <i>V. parahaemolyticus</i> | 329 |
| 20.1.2.3. <i>V. vulnificus</i> | 330 |
| 20.1.3. (revisado) Comentários sobre os métodos de análise | 330 |
| 20.2. (revisado) Método APHA 40.61:2015 para presença/ausência ou NMP de <i>Vibrio cholerae</i> em alimentos e água | 331 |
| 20.2.1. Material requerido para a análise | 332 |
| 20.2.2. Procedimento | 332 |
| 20.3. (revisado) Métodos APHA 40.62/40.63:2015 para presença/ausência ou NMP de <i>V. parahaemolyticus</i> e <i>V. vulnificus</i> | 336 |
| 20.3.1. Material requerido para a análise | 336 |
| 20.3.2. Procedimento | 336 |
| 20.4. Referências | 339 |

Capítulo 21.***Yersinia enterocolitica***

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 21.1. Introdução | 341 |
| 21.1.1. (revisado) Taxonomia | 341 |
| 21.1.2. (revisado) Epidemiologia | 344 |
| 21.1.3. Comentários sobre os métodos de análise .. | 344 |
| 21.2. (revisado) Método APHA 41:2015 para presença/ausência de <i>Yersinia enterocolitica</i> em alimentos | 345 |
| 21.2.1 Material requerido para a análise | 345 |
| 21.2.2. Procedimento | 345 |
| 21.3. (novo) Método ISO 10273:2003 para presença/ausência de <i>Yersinia enterocolitica</i> patogênica presuntiva em alimentos | 349 |
| 21.3.1 Material requerido para a análise | 349 |
| 21.3.2. Procedimento | 351 |
| 21.4. Referências | 355 |

Capítulo 22.**Contagem de esporos de bactérias**

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 22.1. Introdução | 357 |
| 22.1.1. (novo) O esporo bacteriano | 357 |
| Sequência de formação do esporo | 357 |
| Estrutura do esporo | 358 |
| Mecanismos de resistência do esporo | 358 |
| Germinação | 358 |
| Resistência térmica | 359 |
| 22.1.2. (revisado) Taxonomia das bactérias esporogê- nicas importantes em alimentos | 359 |
| <i>Aeribacillus</i> | 359 |
| <i>Alicyclobacillus</i> | 360 |
| <i>Alicyclobacillus acidiphilus</i> | 360 |
| <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> | 361 |
| <i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i> | 361 |
| <i>Alicyclobacillus contaminans</i> | 361 |
| <i>Alicyclobacillus dauci</i> | 361 |
| <i>Alicyclobacillus fastidiosus</i> | 361 |
| <i>Alicyclobacillus herbarius</i> | 362 |
| <i>Alicyclobacillus pomorum</i> | 362 |
| <i>Alicyclobacillus sacchari</i> | 362 |
| <i>Aneurinibacillus</i> | 362 |
| <i>Aneurinibacillus thermoaerophilus</i> | 362 |
| <i>Anoxybacillus</i> | 363 |
| <i>Anoxybacillus contaminans</i> | 363 |
| <i>Anoxybacillus tepidamans</i> | 363 |
| <i>Bacillus</i> | 363 |
| <i>Bacillus coagulans</i> | 364 |
| <i>Bacillus smithii</i> | 365 |
| <i>Bacillus sporothermodurans</i> | 365 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <i>Brevibacillus</i> | 366 |
| <i>Clostridium</i> | 366 |
| <i>Clostridium botulinum</i> | 366 |
| Clostrídios proteolíticos | 368 |
| Clostrídios sacarolíticos | 369 |
| Clostrídios psicrófilos ou psicrotróficos deteriorantes de carnes embaladas à vácuo refrigeradas | 369 |
| <i>Cohnella</i> | 370 |
| <i>Desulfotomaculum</i> | 370 |
| <i>Desulfotomaculum nigrificans</i> | 370 |
| <i>Geobacillus</i> | 371 |
| <i>Geobacillus stearothermophilus</i> | 371 |
| <i>Lysinibacillus</i> | 372 |
| <i>Moorella</i> | 373 |
| <i>Paenibacillus</i> | 373 |
| <i>Sporolactobacillus</i> | 374 |
| <i>Thermoanaerobacter</i> | 374 |
| <i>Thermoanaerobacterium</i> | 374 |
| <i>T. thermosaccharolyticum</i> | 375 |
| <i>Virgibacillus</i> | 375 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 22.2. (revisado) Métodos APHA 25:2015 e APHA 26:2015 para contagem de esporos de termófilos aeróbios totais e “flat-sour” ... | 376 |
| 22.2.1. Material requerido para a análise | 376 |
| 22.2.2. Procedimento para a análise de açúcar | 377 |
| 22.2.3. Procedimento para a análise de amido | 377 |
| 22.2.4. Procedimento para a análise de tomates inteiros, polpa de tomate, purê de tomate e leite concentrado | 378 |
| 22.2.5. Procedimento para a análise de leite em pó desnatado | 378 |
| 22.2.6. Procedimento para a análise de creme de leite | 379 |
| 22.2.7 Procedimento para a análise de outros alimentos (geral) | 379 |
| 22.3. (revisado) Métodos APHA 27:2015 para detecção de esporos de termófilos anaeróbios não produtores de H ₂ S (<i>Thermoanaerobacterium</i> <i>thermosaccharolyticum</i>) | 381 |
| 22.3.1. Material requerido para a análise | 381 |
| 22.3.2. Procedimento para a análise de açúcar e leite em pó | 381 |
| 22.3.3. Procedimento para a análise de amido e farinhas | 382 |
| 22.3.4. Procedimento para a análise de cereais e massas alimentícias | 382 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 22.3.5. Procedimento para a análise de cogumelos frescos | 382 |
| 22.3.6. Procedimento para a análise de produtos na linha de processamento. | 383 |
| 22.4. (revisado) Métodos APHA 28:2015 para contagem de esporos de termófilos anaeróbios produtores de H₂S (<i>Desulfotomaculum nigrificans</i>) | 383 |
| 22.4.1. Material requerido para a análise | 383 |
| 22.4.2. Procedimento para a análise de açúcar | 383 |
| 22.4.3. Procedimento para a análise de amido e farinhas | 384 |
| 22.4.4. Procedimento para a análise de leite em pó desnatado | 384 |
| 22.4.5. Procedimento para a análise de isolados proteicos de soja | 384 |
| 22.5. (revisado) Métodos APHA 23:2015 para contagem de esporos de mesófilos aeróbios | 384 |
| 22.5.1. Material requerido para a análise | 385 |
| 22.5.2. Procedimento para alimentos em geral. | 385 |
| 22.5.3. Procedimento para a análise de leite e produtos lácteos | 387 |
| 22.5.4. Procedimento para a análise de água | 387 |
| 22.6. (revisado) Método APHA 24:2015 para contagem de esporos de mesófilos anaeróbios | 387 |
| 22.6.1. Material requerido para a análise | 388 |
| 22.6.2. Procedimento para a análise de açúcar | 388 |
| 22.6.3. Procedimento para a análise de amido, farinhas e outros produtos de cereais | 388 |
| 22.6.4. Procedimento para a análise de vegetais desidratados. | 389 |
| 22.6.5. Procedimento para a análise de condimentos | 389 |
| 22.6.6. Procedimento para a análise de ovo em pó, leite em pó e outros produtos lácteos em pó | 390 |
| 22.6.7. Procedimento para a análise de leite fluido e queijos | 390 |
| 22.6.8. Outros procedimentos. | 391 |
| 22.7. Método IFU 12:2007 para detecção e contagem de <i>Alicyclobacillus</i> | 391 |
| 22.7.1. Material requerido para a análise | 392 |
| 22.7.2. Procedimento para a análise de matéria-prima | 392 |
| 22.7.3. Procedimento para a análise de produto final | 394 |
| 22.7.4. Interpretação e cálculo dos resultados | 394 |
| 22.8. Referências. | 395 |

Capítulo 23.

Esterilidade comercial ou causa da deterioração

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 23.1. Introdução | 401 |
| Definição de esterilidade comercial | 401 |
| Classificação dos alimentos comercialmente estéreis. | 401 |
| Alimentos de baixa acidez. | 402 |
| Alimentos ácidos. | 402 |
| 23.1.1. Parâmetros de avaliação da resistência térmica dos microrganismos | 402 |
| Curva de sobrevivência e tempo de redução decimal (valor D) | 402 |
| Número de reduções decimais. | 403 |
| Curva de destruição térmica e coeficiente de temperatura (valor z) | 404 |
| 23.1.2. (atualizado) Valores D e z de microrganismos de importância em alimentos | 405 |
| Células vegetativas | 405 |
| Esporos de bolores termorresistentes | 405 |
| Esporos de bactérias | 406 |
| Bactérias esporogênicas aeróbias termófilas estritas | 406 |
| Bactérias esporogênicas anaeróbias termófilas estritas | 406 |
| Bactérias esporogênicas aeróbias termófilas facultativas. | 406 |
| Bactérias esporogênicas aeróbias mesófilas | 406 |
| Bactérias esporogênicas mesófilas anaeróbias | 406 |
| 23.1.3. Dimensionamento de processos térmicos. | 406 |
| Definição da intensidade do processo térmico | 407 |
| 23.1.4. Deterioração microbiana de alimentos enlatados | 408 |
| Subprocessamento. | 408 |
| Contaminação pós-processamento (vazamento) | 408 |
| Deterioração por termófilos estritos | 409 |
| Multiplicação microbiana antes do tratamento térmico | 409 |
| Causas não microbianas de deterioração. | 409 |
| 23.2. (revisado) Método APHA:2015 para teste de esterilidade comercial e determinação da causa da deterioração de alimentos de baixa acidez | 410 |
| 23.2.1. Material requerido para a análise | 410 |
| 23.2.2. Procedimento | 410 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 23.2.3. Interpretação dos resultados | 415 |
| 23.3. (revisado) Método APHA:2015 para teste de esterilidade comercial e determinação da causa da deterioração de alimentos ácidos | 418 |
| 23.3.1. Material requerido para a análise | 418 |
| 23.3.2. Procedimento | 419 |
| 23.3.3. Interpretação dos resultados | 423 |
| 23.4. Referências | 426 |

Capítulo 24.

***Pseudomonas* spp**

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 24.1. Introdução | 427 |
| <i>Pseudomonas</i> | 429 |
| <i>Pseudomonas</i> em água tratada para consumo humano | 430 |
| <i>Pseudomonas</i> em água mineral e água natural | 430 |
| <i>Pseudomonas</i> em alimentos | 430 |
| <i>Shewanella</i> | 431 |
| <i>Shewanella putrefaciens</i> (sinônimo <i>Pseudomonas putrefaciens</i>) | 431 |
| <i>Janthinobacterium</i> | 432 |
| <i>Janthinobacterium lividum</i> (sinônimo <i>Pseudomonas mephitica</i>) | 432 |
| <i>Stenotrophomonas</i> | 433 |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (sinônimo <i>Pseudomonas maltophilia</i>) | 433 |
| Comentários sobre os métodos de análise | 433 |
| 24.2. Método do NMP APHA/AWWA/WEF 9213:2012 para contagem de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em água | 434 |
| 24.2.1. Material requerido para a análise | 434 |
| 24.2.2. Procedimento | 436 |
| 24.3. (novo) Método de filtração em membrana ISO 16266:2006 para contagem de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em água | 436 |
| 24.3.1. Material requerido para a análise | 436 |
| 24.3.2. Procedimento | 436 |
| 24.4. (revisado) Método de plaqueamento ISO 13720:2010 para contagem presuntiva de <i>Pseudomonas</i> spp em carne e produtos cárneos | 439 |
| 24.4.1. Material requerido para a análise | 439 |
| 24.4.2. Procedimento | 439 |
| 24.5. Método de plaqueamento ISO 11059:2009 para contagem de <i>Pseudomonas</i> spp em leite e produtos lácteos | 441 |
| 24.5.1. Material requerido para a análise | 441 |
| 24.5.2. Procedimento | 441 |
| 24.6. Referências | 444 |

Capítulo 25.

Preparação de material de laboratório para análises microbiológicas

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 25.1. (revisado) Descontaminação e descarte de resíduos contaminados | 445 |
| 25.2. Lavagem | 445 |
| 25.3. Acondicionamento | 446 |
| 25.4. (revisado) Esterilização | 447 |
| 25.5. Preparo de vidraria nova | 448 |
| 25.6. Controle de qualidade do material | 448 |
| 25.6.1. (revisado) Verificação da limpeza | 448 |
| 25.6.2. (revisado) Verificação da esterilização | 448 |
| 25.6.3. Verificação da presença de resíduos tóxicos | 448 |
| 25.7. Referências | 449 |

Capítulo 26.

Cuidados na preparação de meios de cultura e reagentes para análises microbiológicas

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 26.1. Introdução | 451 |
| 26.1.1. Ingredientes utilizados na formulação de meios de cultura | 451 |
| 26.1.1.1. (revisado) Água para o preparo de meios e reagentes | 451 |
| 26.1.1.2. Fontes de nutrientes em meios de cultura | 452 |
| 26.1.1.3. Agentes seletivos | 454 |
| 26.1.1.4. Agentes diferenciais | 455 |
| 26.1.1.5. Agentes redutores | 455 |
| 26.1.1.6. Agentes tamponantes | 456 |
| 26.1.1.7. Substratos cromogênicos e fluorogênicos | 456 |
| 26.1.1.8. Ágar | 456 |
| 26.1.2. (revisado) Classificação dos meios de cultura | 456 |
| 26.1.2.1. Classificação pela composição | 456 |
| 26.1.2.2. Classificação pela consistência | 457 |
| 26.1.2.3. Classificação pela forma de preparação | 457 |
| 26.1.2.4. Classificação pela função | 457 |
| 26.2. Procedimento para preparação de meios de cultura | 458 |
| 26.2.1. Armazenamento dos insumos para preparo de meios de cultura | 458 |
| 26.2.2. Pesagem e reidratação | 459 |
| 26.2.3. Dissolução e dispersão | 459 |
| 26.2.4. Verificação e ajuste do pH antes da esterilização | 459 |

| | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 26.2.5. Distribuição | 459 | Ágar Coliformes Cromogênico (CCA) | 473 |
| 26.2.6. Esterilização pelo calor úmido | 460 | Ágar Columbia Sangue (CBA) | 474 |
| 26.2.7. Esterilização por filtração | 461 | Ágar (Caldo) Dextrose Triptona (DTA/DTB) | 474 |
| 26.2.8. Verificação depois da esterilização | 461 | Ágar Dicloran Glicerol 18 (DG18) | 474 |
| 26.2.9. Preparação dos suplementos para meios de cultura. | 462 | Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) | 475 |
| 26.2.10. (revisado) Estocagem dos meios esterilizados até o momento do uso. | 462 | Ágar (Caldo) Elliker | 475 |
| 26.2.10.1. Recomendações da ISO 11133:2014. | 462 | Ágar Entérico de Hecktoen (HE) | 475 |
| 26.2.10.2. Recomendações do <i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater</i> (Hunt, 2012) | 462 | Ágar Extrato de Levedura (YEA) | 476 |
| 26.2.11. Preparação dos meios no momento do uso | 463 | Ágar (Caldo) Extrato de Levedura Amido Glicose (YSG) | 476 |
| 26.3. Referências. | 463 | Ágar Extrato de Levedura Glicose Cloranfenicol (YEGC) | 476 |
| | | Ágar Extrato de Malte com Antibióticos (MEA ANT) | 476 |
| | | Ágar Extrato de Malte 0,5% Ácido Acético (MAA) | 477 |
| | | Ágar Extrato de Malte Extrato de Levedura 40% Glicose (MY40G) | 477 |
| | | Ágar Fenilalanina Deaminase | 477 |
| | | Ágar Fígado de Vitela (LVA) | 477 |
| | | Ágar Gema de Ovo Anaeróbico (AEY) | 478 |
| | | Ágar Gentamicina Tálcio Carbonato Fluorogênico (FGTC) | 478 |
| | | Ágar Glicose | 478 |
| | | Ágar (Caldo) Infusão Cérebro Coração (BHIA/BHI) | 479 |
| | | Ágar de Isolamento de <i>Enterobacter sakazakii</i> (ESIA) | 479 |
| | | Ágar K | 479 |
| | | Ágar KF <i>Streptococcus</i> (KF) | 479 |
| | | Ágar Kim-Goepfert (KG) | 480 |
| | | Ágar Kligler Ferro (KIA) | 480 |
| | | Ágar Leveduras Resistentes aos Conservantes (PRY) (Preservative Resistant Yeasts Medium) | 481 |
| | | Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) | 481 |
| | | Ágar Lipovitelena Sal Manitol (LSM) | 481 |
| | | Ágar Lisina Arginina Ferro (LAIA) | 481 |
| | | Ágar Lisina Ferro (LIA) | 482 |
| | | Ágar Lisina Ferro Duplamente Modificado (DM-LIA) | 482 |
| | | Ágar <i>Listeria</i> Ottaviani & Agosti (ALOA) | 482 |
| | | Ágar MacConkey | 483 |
| | | Ágar MacConkey Sorbitol Telurito Cefixima (TC-SMAC) | 484 |
| | | Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) | 484 |
| | | Ágar m-Enterococos (Slanetz & Bartley Medium) | 485 |
| Anexo 1. | | | |
| Preparo de meios e reagentes para as análises | | | |
| Ágar/Caldo Acetamida | 465 | | |
| Ágar/Caldo APT (All Purpose Tween) | 465 | | |
| Ágar APT Acidificado | 466 | | |
| Ágar APT BCP 2% Sacarose | 466 | | |
| Ágar APT 1,5% Glicose | 466 | | |
| Ágar Azul de Toluidina DNA | 466 | | |
| Ágar/Caldo <i>Bacillus acidoterrestris</i> (BAT) | 467 | | |
| Ágar Baird-Parker (BP) | 467 | | |
| Ágar Batata Dextrose Acidificado (PDA-AC) | 468 | | |
| Ágar Batata Dextrose com Antibióticos (PDA-ANT) | 468 | | |
| Ágar Bile Esculina | 469 | | |
| Ágar Bile Esculina Azida | 469 | | |
| Ágar Bismuto Sulfito (BS) | 469 | | |
| Ágar Cefalotina Fusidato Ceftrimida (CFC) | 470 | | |
| Ágar Cefsulodina Irgasan Novobiocina (CIN) | 470 | | |
| Ágar Celobiose Colistina (CC) | 471 | | |
| Ágar Celobiose Polimixina Colistina Modificado (m-CPC) | 471 | | |
| Ágar Carvão Cefoperazona Desoxicolato Modificado (m-CCDA) (também chamado de Ágar <i>Campylobacter</i> Carvão Diferencial Modificado) | 472 | | |
| Ágar Chromagar <i>Listeria</i> | 472 | | |
| Ágar Chromagar <i>Vibrio</i> | 472 | | |
| Ágar Citrato Azida | 472 | | |
| Ágar Citrato de Simmons | 473 | | |
| Ágar Cloreto de Lítio Feniletanol Moxalactan (LPM) Suplementado com Esculina e Fe ³⁺ | 473 | | |

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Ágar m-HPC | 485 | Ágar Trypticase de Soja (TSA) com Magnésio e Oxalato | 497 |
| Ágar Motilidade para <i>Bacillus cereus</i> | 485 | Ágar Triptona Glicose Extrato de Carne (TGE) .. | 497 |
| Ágar/Caldo MRS (De Man Rogosa & Sharpe) | 485 | Ágar (Caldo) Triptona Glicose Extrato de Levedura 0,5% Ácido Acético (TGYA – TGYB) | 497 |
| Ágar MRS Acidificado | 486 | Ágar Triptose Sulfito Cicloserina (TSC) | 497 |
| Ágar MRS Acidificado Frutose 1% | 486 | Ágar Tween Esterase | 498 |
| Ágar MRS Ácido Sórbico 0,1% | 486 | Ágar Ureia de Christensen | 498 |
| Ágar MRS Ácido Sórbico Cisteína | 486 | Ágar Verde Brilhante (BG) | 499 |
| Ágar MRS Frutose 0,5% | 487 | Ágar Verde Brilhante Sulfa (BGS) | 499 |
| Ágar MRS Modificado | 487 | Ágar Vermelho Violeta Bile (VRB) | 499 |
| Ágar Mueller Hinton 5% Sangue | 487 | Ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG) | 499 |
| Ágar Nitrato Motilidade | 487 | Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) | 500 |
| Ágar/Caldo Nutriente (NA/NB) | 487 | Ágar Xilose Lisina Tergitol 4 (XLT4) | 500 |
| Ágar Nutriente Azul de Tripano | 488 | Água Peptonada 0,1% (H ₂ Op) | 500 |
| Ágar Nutriente Manganês (ANMn) | 488 | Água Peptonada Alcalina (APA) | 501 |
| Ágar NWRI (HPCA) | 488 | Água Peptonada Tamponada (BPW) | 501 |
| Ágar Oxford (OXA) Ágar Oxford Modificado (MOX) | 488 | Água Peptonada Tamponada com Cristal Violeta | 501 |
| Ágar Oxoid <i>Listeria</i> Cromogênico (OCLA) | 489 | Água Peptonada Tamponada Modificada com Piruvato (mBPWp) | 501 |
| Ágar Padrão para Contagem (PCA) Standard Methods Agar (SMA) Tryptone Glucose Yeast Extract Agar | 489 | Água Salina Peptonada (H ₂ Osp) | 501 |
| Ágar Padrão para Contagem (PCA) Suplementado com Amido Solúvel | 489 | Água Verde Brilhante (H ₂ Ovb) | 502 |
| Ágar Padrão para Contagem (PCA) Suplementado com Cloranfênicol | 489 | Álcool 70% | 502 |
| Ágar Palcam | 490 | Álcool Iodado | 502 |
| Ágar Penicilina Pimaricina (PPA) | 490 | Álcool Iodado 3:1 | 502 |
| Ágar Pirazinamidase | 490 | Caldo Acetamida = <i>vide</i> Ágar/Caldo Acetamida | |
| Ágar <i>Pseudomonas</i> CN | 491 | Caldo Acetamida ISO 16266 | 502 |
| Ágar R2A | 491 | Caldo Ácido (CA) = <i>vide</i> Caldo Thermoacidurans (mesma formulação) | |
| Ágar Rainbow O157 | 492 | Caldo Ali | 503 |
| Ágar Rapid <i>L.mono.</i> | 492 | Caldo APT = <i>vide</i> Ágar/Caldo All Purpose Tween | |
| Ágar R&F O157 | 492 | Caldo Asparagina | 503 |
| Ágar/Caldo Rogosa SL | 492 | Caldo <i>Bacillus acidoterrestris</i> (BAT) = <i>vide</i> Ágar/Caldo <i>Bacillus acidoterrestris</i> | |
| Ágar <i>Salmonella Shigella</i> Desoxicolato (SSDC) .. | 492 | Caldo Bolton | 503 |
| Ágar Sangue N° 2 | 493 | Caldo <i>Brucella</i> | 504 |
| Ágar Sangue de Cavalo em Sobrecamada (HL) .. | 493 | Caldo Cianeto de Potássio (KCN) (cuidado, veneno) | 504 |
| Ágar Selo | 493 | Caldo Citrato de Koser | 505 |
| Ágar Selo Tioglicolato | 493 | Caldo Descarboxilase | 505 |
| Ágar (Caldo) Soro de Laranja (OSA/OSB) | 494 | Caldo Descarboxilase de Falkow | 505 |
| Ágar Sulfeto Indol Motilidade (SIM) | 494 | Caldo Dextrose Púrpura de Bromocresol (BCP) .. | 505 |
| Ágar Sulfito | 494 | Caldo Dextrose Triptona (DTB) = <i>vide</i> Ágar (Caldo) Dextrose Triptona | |
| Ágar Sulfito Ferro | 494 | Caldo Diferencial Reforçado para Clostrídios (DRCM) | 506 |
| Ágar (Caldo) T ₁ N ₀ - T ₁ N ₁ - T ₁ N ₃ | 495 | Caldo <i>E. coli</i> (EC) | 506 |
| Ágar/Caldo Thermoacidurans (TAA/TAB) | 495 | Caldo <i>E. coli</i> com 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo (EC-MUG) | 506 |
| Ágar Tiosulfato Citrato Bile Sacarose (TCBS) .. | 495 | | |
| Ágar Tirosina | 495 | | |
| Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) | 496 | | |
| Ágar Trypticase de Soja (TSA) | 496 | | |

| | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Caldo de Enriquecimento de <i>Enterobacteriaceae</i> (EEB) | 507 | Caldo Trypticase de Soja (TSB) | 516 |
| Caldo de Enriquecimento para <i>Listeria</i> Tamponado (BLEB) | 507 | Caldo Triptona 1% | 517 |
| Caldo de Enriquecimento de <i>Listeria</i> Tamponado com Ácido Morfolinopropanosulfônico (MOPS-BLEB) | 507 | Caldo Triptona Glicose Extrato de Levedura 0,5% Ácido Acético (TGYB) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Triptona Glicose Extrato de Levedura 0,5% Ácido Acético | |
| Caldo Extrato de Levedura Amido Glicose (YSG) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Extrato de Levedura Amido Glicose | | Caldo Universidade de Vermont Modificado (UVM) | 517 |
| Caldo Extrato de Malte (EM) | 508 | Caldo Ureia Rápido | 518 |
| Caldo Fraser – Half-Fraser – Half-Fraser Base | 508 | Caldo Ureia de Rustigian & Stuart | 518 |
| Caldo de Fígado (CF) | 509 | Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) | 518 |
| Caldo Half-Fraser = <i>vide</i> Caldo Fraser – Caldo Half-Fraser – Caldo Fraser Base | | Caldo Vermelho de Fenol-Carboidratos | 518 |
| Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Infusão Cérebro Coração | | Caldo VM VP | 519 |
| Caldo Infusão de Vitela (VIB) | 509 | Caldo VP Modificado para <i>Bacillus</i> | 519 |
| Caldo Irgasan Ticarcilina Clorato (ITC) | 509 | Discos de Indoxil Acetato | 519 |
| Caldo KF <i>Streptococcus</i> (KFB) | 510 | Escala de McFarland | 519 |
| Caldo Lactosado (CL) | 510 | Etanol 70% = <i>vide</i> Álcool 70% | |
| Caldo Lactose Sulfito (LS) | 511 | Formalina = <i>vide</i> Solução Salina Formalinizada | |
| Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) | 511 | Leite em Pó Desnatado Reconstituído | 520 |
| Caldo Lauril Sulfato Triptose Modificado Vancomicina (m-LST-V) | 511 | Leite Tornassolado (Litmus Milk) | 520 |
| Caldo Malonato Modificado | 512 | Meio de Carne Cozida (CMM) | 520 |
| Caldo MRS (De Man, Rogosa & Sharpe) = <i>vide</i> Ágar/Caldo MRS | | Meio de Fermentação de Carboidratos para <i>Clostridium perfringens</i> | 521 |
| Caldo M- <i>Staphylococcus</i> | 512 | Meio de King B | 521 |
| Caldo Nitrato | 512 | Meio de Lactose Gelatina (MLG) | 521 |
| Caldo Nutriente (NB) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Nutriente | | Meio PE-2 | 522 |
| Caldo Nutriente Lisozima | 512 | Meio Reforçado para Clostrídios (RCM) | 522 |
| Caldo Peptona Sorbitol Bile (PSBB) | 513 | Meio Reforçado para Clostrídios com Lactato (RCML) | 522 |
| Caldo de Pré-Enriquecimento Universal | 513 | Meio Teste de Motilidade | 522 |
| Caldo Púrpura Base Carboidratos | 513 | Meio Teste de Motilidade ISO | 523 |
| Caldo Rappaport-Vassiliadis Modificado (RV = R10) Caldo Rappaport- -Vassiliadis Soja (RVS) | 513 | Meio de Tioglicolato (TGM) | 523 |
| Caldo Rogosa SL = <i>vide</i> Ágar/Caldo Rogosa SL | | Reagente de Beta-Galactosidase (orto-nitrofenil- -β-d-galactopiranosídeo – ONPG) | 523 |
| Caldo Selenito Cistina (SC) | 514 | Reagente de Beta-Glicosidase | 523 |
| Caldo Soro de Laranja (OSB) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Soro de Laranja | | Reagente de Catalase (Peróxido de Hidrogênio 3%) | 524 |
| Caldo T ₁ N ₀ e T ₁ N ₃ = <i>vide</i> Ágar/Caldo T ₁ N ₀ - T ₁ N ₁ - T ₁ N ₃ | | Reagentes para Coloração de Esporos (Ashby) | 524 |
| Caldo Tetrionato (TT) | 515 | Reagentes para Coloração de Gram (Hucker) | 524 |
| Caldo Tetrionato Hajna (TTH) | 515 | Reagente de Fosfatase Ácida | 524 |
| Caldo Tetrionato Muller Kauffmann Novobiocina (MKTTn) | 515 | Reagente de Kovacs para Teste de Indol (Solução alcoólica 5% p-dimetilaminobenzaldeído) | 525 |
| Caldo Thermoacidurans (TAB) = <i>vide</i> Ágar/Caldo Thermoacidurans | | Reagente de Kovacs para Teste de Oxidase (Solução 1% de cloridrato de N,N,N,N- -tetrametil-p-fenilenodiamina) | 525 |
| | | Reagente de Nessler | 525 |
| | | Reagentes de Nitrato (Solução 0,8% ácido sulfanílico e solução 0,5% alfa-naftol) | 526 |

| | | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Reagente de Nitrato ISO 7937 (Mistura da solução de ácido 5-amino-2-naftalenossulfônico com solução de ácido sulfanílico) | 526 | Solução de Hipurato de Sódio | 530 |
| Reagente de VM para Teste de Vermelho de Metila | 526 | Solução Iodo Desinfetante | 530 |
| Reagentes de VP para Teste de Voges Proskauer (Solução 40% de hidróxido de potássio ou sódio e solução 5% de alfa-naftol) | 526 | Solução de Ninidrina | 530 |
| Reagentes de VP ISO para Teste Voges-Proskauer (Solução 1-naftol, solução aquosa 40% hidróxido de potássio, solução de creatina) | 527 | Solução de Ringer ¼ de Concentração | 530 |
| Soluções de Ácido Clorídrico (HCl) | 527 | Solução de Safranina 0,5% | 530 |
| Solução de Azul Brilhante de Coomassie | 527 | Solução Salina 0,85% | 530 |
| Solução de Azul de Bromotimol 0,04% | 527 | Solução Salina Formalinizada (Formalina) | 531 |
| Solução de Citrato de Sódio 2% | 528 | Solução de Sudan Black 0,3% | 531 |
| Solução de Cloreto Férrico 10% | 528 | Solução de Sulfato Ferroso Amoniacal 1% | 531 |
| Soluções de Corantes e Indicadores de pH para Adição em Meios de Cultura | 528 | Solução Tamponada Glicerol Sal | 531 |
| Solução de Desoxicolato de Sódio 0,5% | 528 | Solução Tiosulfato de Sódio 3% ou 10% | 531 |
| Solução de Fosfato de Potássio (K_2HPO_4) 2% | 529 | Solução de Tripolifosfato 2% | 532 |
| Solução de Fosfato de Potássio (K_2HPO_4) 2% com Antiespumante | 529 | Solução de Verde Malaquita (Aquosa 5%) = <i>vide</i> Reagentes para Coloração de Esporos | |
| Solução de Hidróxido de Potássio Salina 0,5% | 529 | Tampão Fosfato pH 7,2 (PB) (Tampão Butterfield = Água de Diluição Fosfato) | 532 |
| Soluções de Hidróxido de Sódio | 529 | Tampão Fosfato Conforme ISO 6887-4:2003 | 532 |
| Solução Hipoclorito de Sódio 100 ou 200 mg/l (100 ou 200ppm) | 529 | Tampão Fosfato Conforme ISO 6887-5:2010 | 532 |
| | | Tampão Fosfato com Cloreto de Magnésio (PB-MgCl ₂) | 533 |
| | | Tampão Fosfato Salina (PBS) | 533 |
| | | Tampão Fosfato Salina 0,02M para Teste de Lisostafina | 533 |
| | | Vaspar | 533 |
| | | Referências | 534 |

1

Coleta, transporte e estocagem de amostras para análise

Revisões da 5ª edição

- Item 1.3.1 (revisado)** A esterilização de frascos e utensílios para coleta de amostras em autoclave deve ser feita a 121 ± 3 °C por 15 minutos no mínimo. Em estufas deve ser feita a 170 ± 10 °C por 1 hora no mínimo (ISO 7218:2007/Amd.1:2013).
- Item 1.3.4 (revisado)** Nas orientações da 21ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* para a coleta de amostras de água havia a recomendação de adicionar EDTA às amostras com teor alto de metais. Essa recomendação foi suprimida na 22ª edição e também nesta 5ª edição do Manual.
- Item 1.4.3 (revisado)** A temperatura de estocagem de amostras sob refrigeração recomendada pela 5ª edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* passa de 0 a 4,4 °C para 0 a 4,0 °C. O tempo máximo de seis horas para estocagem de amostras de moluscos e crustáceos foi suprimida na 5ª edição do *Compendium* e também deste Manual.
- Item 1.4.5 (revisado)** A temperatura de estocagem de amostras de água sob refrigeração recomendada pela 22ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Hunt, 2012) passa de 10 °C para 8 °C, enfatizando-se a recomendação de que essas amostras não devem ser congeladas.

1.1. Introdução

As recomendações contidas nesse capítulo são da American Public Health Association (APHA), descritas na 5ª edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Salfinger & Tortorello, 2015), na 22ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Hunt, 2012) (específicas para a análise de água), na 17ª edição do *Standard Methods for the Examination of Dairy Products* (Wehr & Frank, 2004) (específicas para a análise de produtos lácteos) e em diversas normas da International Organization for Standardization (recomendadas para ensaios realizados com metodologia ISO).

Alguns termos utilizados ao longo do texto são oriundos da terminologia relacionada com a amostragem de lotes e devem ter seu significado corretamente compreendido:

Lote

Lote é definido como uma quantidade de alimen-

to de mesma composição e características físicas, químicas e sensoriais, produzida e manuseada numa mesma batelada, sob as mesmas condições. Na prática, lote geralmente é a quantidade de alimento produzida dentro de um intervalo de tempo de funcionamento de uma linha de produção, sem interrupção.

Amostra de lote e unidade de amostra

Amostra de lote é uma fração do total produzido, retirada ao acaso, para avaliar as condições do lote. No caso de alimentos acondicionados em embalagens individuais, é composta de **n** embalagens individuais. No caso de grandes massas de alimentos, não acondicionados em embalagens individuais, é composta de **n** alíquotas do produto. As embalagens ou alíquotas individuais são chamadas de unidades de amostra e, para a avaliação do lote, são analisadas separadamente. A partir do conjunto de resultados da análise das **n** unidades de amostra, é possível inferir as características de todo o lote, mas o resultado da análise de uma úni-

ca unidade de amostra não pode ser tomado como representativo do lote.

Nas análises de *Salmonella*, cujo padrão em alimentos é ausência em qualquer das unidades de amostra, é comum a prática de compor (misturar) as unidades de amostra, para realizar um único ensaio. A presença na amostra composta é inaceitável, independente de quantas ou quais unidades de amostra estejam contaminadas. Maiores detalhes são apresentados no capítulo específico de *Salmonella*.

Planos de amostragem de lotes

Sempre que se tratar da avaliação de lotes ou partidas, a tomada das ***n*** unidades de amostra deverá seguir um plano de amostragem estatístico adequado. Os mais utilizados são os planos de duas ou três classes estabelecidos pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2002), adotados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O plano de duas classes classifica os lotes em duas categorias, aceitável ou inaceitável, dependendo dos resultados da análise das ***n*** unidades de amostra. É o mais aplicado no caso de ensaios de presença/ausência, como *Salmonella*, por exemplo, em que a ausência é aceitável e a presença em qualquer das ***n*** unidades de amostra é inaceitável.

O plano de três classes classifica os lotes em três categorias, aceitável, qualidade intermediária mas aceitável e inaceitável. São recomendados para ensaios quantitativos, para os quais o padrão não é ausência, mas sim, valores dentro de uma faixa entre ***m*** e ***M***. Os parâmetros utilizados nesses planos, para a tomada de decisões a respeito dos lotes são:

n: é o número de unidades de amostras a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote, para serem analisadas individualmente. As ***n*** unidades de amostra constituem a amostra representativa do lote. Para ensaios de presença/ausência, não quantitativos (*Salmonella* ou *Listeria monocytogenes*, por exemplo) as unidades de amostra poderão ser compostas e realizada uma única análise, porém, na composição das amostras devem ser consulta-

das e obedecidas as orientações dos capítulos relacionados aos ensaios específicos em questão.

m: é o padrão microbiológico estabelecido para um dado microrganismo, num dado alimento. Em um plano de três classes esse valor separa um lote aceitável de um lote com qualidade intermediária aceitável.

M: é um limite tolerável, acima do padrão, que pode ser atingido por algumas (***c***) unidades de amostra, mas não pode ser ultrapassado por nenhuma. Em um plano de duas classes, ***M*** separa o lote aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável.

c: dentre as ***n*** unidades de amostra que constituem a amostra representativa do lote, ***c*** é o número máximo de unidades que podem ser aceitas com contagens acima do padrão ***m***, desde que não acima do limite ***M***. Nos casos em que o padrão microbiológico é ausência, ***c*** é igual a zero e aplica-se o plano de duas classes.

Unidade analítica

A unidade de amostra geralmente contém uma quantidade de produto maior do que a necessária para a análise, porque, ao se coletar uma unidade de amostra, há sempre o cuidado de se tomar quantidades suficientes para estocagem de contra-amostras e prevenção de perdas por acidente. Unidade analítica é a quantidade de alimento efetivamente utilizada na realização de um ou mais ensaios da unidade de amostra. O número de unidades analíticas necessárias para a análise depende do número e tipos de ensaios que serão realizados na mesma unidade de amostra, sendo uma para os ensaios gerais de quantificação (contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de bolores e leveduras, contagem de coliformes totais/termotolerantes/*E. coli*, contagem de *S. aureus*, contagem de *B. cereus*, contagem de *C. perfringens*), uma para cada ensaio de presença/ausência (*Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e todos os outros que requeiram enriquecimento em caldo específico) e uma para cada outro ensaio que requeira tratamento diferenciado da amostra

(contagem de esporos de bactérias, contagem de bolores termorresistentes e outros).

1.2. Material necessário

Frascos e utensílios para coleta

- Frascos ou bolsas plásticas estéreis de capacidade variada
- Espátulas
- Facas
- Colheres
- Tesouras
- Pinças
- Caladores
- Amostradores verticais de tubo duplo
- Amostradores tipo “corer”
- Furadeira elétrica e brocas esterilizadas
- Caixas de isopor com gelo seco ou sachês de gelo reutilizável em gel

Reagentes e diluentes

- Etanol 70%
- Solução de hipoclorito de sódio a 100 mg/l (100ppm)
- Solução de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 3% ou 10%
- Solução Tamponada Glicerol Sal

Equipamentos

- Freezer com temperatura abaixo de 20 °C negativos
- Refrigerador com temperatura entre 0 e 4 °C

1.3. Coleta de amostras para análise

O capítulo 2 do *Compendium* (Taylor *et al.*, 2015) recomenda que amostras de alimentos acondicionados em embalagens individuais sejam coletadas e encaminhadas ao laboratório na sua embalagem comercial original, fechada e intacta. Cada embalagem unitária do produto constitui uma unidade de amostra e devem ser coletadas tantas unidades de amostra quantas forem requeridas pelo plano de amostragem. Se a embalagem unitária contiver uma quantidade de alimento insuficiente para as

análises e guarda de contra amostras, deve-se coletar várias embalagens unitárias, como parte de uma mesma unidade de amostra. No momento da análise, deve-se juntar o conteúdo dessas diversas embalagens em um único frasco estéril, misturando-se bem e retirar a unidade analítica da mistura. Se o produto não permitir mistura, deve-se tomar, de cada uma das embalagens unitárias, porções de peso aproximadamente igual, para compor a unidade analítica daquela unidade de amostra.

No caso de alimentos contidos em tanques ou grandes embalagens, impossíveis de serem transportadas ao laboratório, deve-se transferir porções representativas da massa total para frascos ou bolsas de coleta estéreis, sob condições assépticas.

1.3.1. Seleção e preparação de frascos para coleta de alimentos acondicionados em embalagens não individuais

Utilizar frascos ou bolsas com tampas à prova de vazamentos, de material não tóxico, aprovado para contato com alimentos e, de preferência, autoclaváveis ou pré-esterilizados. Não é recomendável o uso de frascos de vidro, devido ao risco de quebra, contaminação do ambiente de coleta com cacos de vidro e perda do conteúdo

Escolher frascos com tamanho adequado para a quantidade de alimento que será coletada. Para definir a quantidade de amostra a ser coletada, considerar que cada unidade de amostra deve conter, no mínimo, duas vezes o número de unidades analíticas que serão utilizadas nos ensaios, de preferência, três a quatro vezes esse valor, para a separação da contra-amostra e prevenção de possíveis perdas. Levar em conta, ainda, o fato de que os frascos de coleta não devem ser completamente preenchidos pelo alimento, sendo recomendável utilizar, no máximo, três quartos de sua capacidade, para facilitar a posterior homogeneização da amostra, antes da retirada da(s) unidade(s) analítica(s).

Os frascos e utensílios não pré-esterilizados que serão utilizados na coleta (espátulas, colheres, tesouras, pinças, caladores etc.) devem, de preferência, ser esterilizados individualmente em auto-

clave (121 ± 3 °C pelo menos por 15 minutos) ou em estufa de esterilização (170 ± 10 °C pelo menos por uma hora) (ISO 7218:2007/Amd.1:2013). Alguns outros métodos que podem ser utilizados como alternativa são a flambagem em chama, a imersão em etanol e combustão do álcool (pode não eliminar esporos) e o tratamento com soluções desinfetantes. Nesse último caso devem ser usados desinfetantes aprovados para superfícies de contato com alimentos, aplicados conforme a orientação dos fabricantes e seguidos de 12 enxágues com água purificada estéril, para a remoção dos resíduos. Frascos ou bolsas não estéreis que apresentem, num teste de lavagem da superfície interna, contagem de microrganismos viáveis menor do que 1 UFC/ ml de capacidade, podem ser utilizados sem esterilização prévia.

1.3.2. Procedimentos para a coleta de alimentos acondicionados em embalagens não individuais

- a) Antes de iniciar a coleta da unidade de amostra, promover uma mistura de toda a massa de alimento, para garantir que a distribuição dos microrganismos seja homogênea. Retirar então, com utensílios ou instrumentos adequados, a quantidade de produto necessária para compor a unidade de amostra.
- b) Se não for possível promover a mistura da massa de alimentos antes do início da amostragem, retirar porções de diferentes partes do conteúdo, até obter a quantidade de produto adequada para compor a unidade de amostra. Evitar a retirada de porções das regiões próximas à superfície ou abertura do tanque ou volume.
 - b1) Para coletar amostras de pó, em diferentes partes de tanques ou grandes embalagens, podem ser utilizados caladores ou amostradores verticais de tubo duplo, com comprimento suficiente para atingir o centro da massa de alimento. Usar um amostrador estéril diferente para cada unidade de amostra coletada, ou desinfetar o instrumento entre uma amostragem e outra.
 - b2) Para compor uma unidade de amostra com porções de diferentes pontos de alimentos

em grandes peças sólidas, deve-se usar facas, pinças e fórceps estéreis para cortar pedaços menores do alimento.

- b3) No caso de grandes blocos de alimentos congelados, como blocos de pescados e frutos do mar, blocos de ovo líquido etc., o mais adequado é utilizar uma furadeira elétrica (com a broca previamente esterilizada) combinada com um funil estéril. A broca é inserida no funil (cujo diâmetro de abertura inferior deve ser apenas ligeiramente maior que o diâmetro da broca) e encostada no ponto do bloco que se deseja amostrar. Liga-se a furadeira e as raspas congeladas do alimento vão-se dirigindo para a superfície, sendo coletadas no funil, de onde podem ser transferidas para um frasco de coleta adequado.
- b4) Quando a coleta for feita através de torneiras ou tubulações, limpar a parte externa da saída com etanol 70%, flambar, se o material for resistente ao fogo, e deixar escoar uma certa quantidade do produto, antes de iniciar a coleta. Isso vai promover uma lavagem da tubulação e remover os resíduos acumulados.
- b5) Para a amostragem de margarina e produtos similares (“spreads”) a ISO 6887-4:2017 recomenda remover a camada externa (3 a 5mm) e retirar as unidades de amostra com um amostrador tipo “corer”, previamente esterilizado. Introduzir o instrumento na diagonal, sem atingir o fundo, rodar num círculo completo e retirar, trazendo uma porção cônica do produto.
- c) Lembrar que a superfície externa dos frascos e bolsas de coleta não é estéril. Assim, não segurar os frascos ou bolsas diretamente acima da massa de alimento, pois podem cair ou introduzir contaminantes no produto. Da mesma forma, nunca introduzir um frasco de coleta diretamente no produto, mas sim, utilizar um utensílio adequado para retirar as unidades de amostra.
- d) Ao retirar o instrumento de coleta cheio com o produto coletado, não manuseá-lo sobre os

outros instrumentos pré-esterilizados, pois respingos do alimento podem contaminar os que serão utilizados posteriormente.

- e) Abrir os frascos ou bolsas de coleta apenas o necessário para introduzir o produto e fechar imediatamente.
- f) Não tocar a superfície interna dos frascos ou bolsas de coleta e suas tampas.
- g) Alimentos contaminados podem conter microrganismos perigosos para a saúde. Essas amostras devem ser coletadas por pessoal bem treinado na manipulação de microrganismos, ciente dos cuidados necessários para sua própria proteção. Na dúvida, tratar cada amostra como se estivesse contaminada.

1.3.3. Coleta de alimentos envolvidos em casos de doenças de origem alimentar (DTAs)

O capítulo 2 do *Compendium* (Taylor *et al.*, 2015) recomenda coletar e analisar amostras de todos os alimentos suspeitos, o mais cedo possível. Entretanto, não adianta coletar amostras de alimentos que tenham sofrido abuso de temperatura ou que já se encontrem em estado de parcial deterioração. Os resultados dessas análises serão de pouca ou nenhuma utilidade para as conclusões da investigação. 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 utilizados na preparação das refeições suspeitas e coletar os vasilhames onde as refeições suspeitas se encontravam acondicionadas

1.3.4. Coleta de amostras de água

O capítulo 60 do *Compendium* (Robin & Feng, 2015) trata da coleta de água engarrafada, considerada pelo Codex Alimentarius como alimento. Essas amostras devem ser coletadas na embalagem original, lacrada. Em havendo interesse ou necessidade de coletar volumes menores, a partir de embalagens de maior capacidade, deve-se ho-

mogeneizar todo o conteúdo, invertendo a embalagem várias vezes, desinfetar o bocal com etanol 70% e, em condições assépticas, abrir o lacre com uma faca ou tesoura estéril ou flambada. Desprezar o volume inicial e coletar a amostra em um frasco estéril adequado.

Para a coleta de outros tipos de água, a parte 9060A da 22ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Hunt, 2012) traz as seguintes orientações:

- a) Para coletar amostras de torneiras e tubulações, limpar a área externa da saída com uma solução de hipoclorito de sódio a 100 mg/l ou com etanol 70%, flambando, se o material for resistente ao fogo. Abrir totalmente a torneira e deixar a água fluir por 2 a 3 minutos, para limpar a tubulação. Reduzir o fluxo para coletar a amostra sem respingos para fora do frasco de coleta.
- b) Para coletar amostras de água de poço ou cisterna com bomba, bombear a água por cinco a 10min, para estabilizar a temperatura da água antes da coleta. Se não houver uma bomba, preparar os frascos de coleta com um peso na base e introduzir o frasco diretamente no poço. É necessário cuidado para não contaminar a amostra com material acumulado na superfície da água.
- c) Para coletar amostras de água de rios, lagos ou reservatórios, segurar o frasco de coleta pela base e mergulhar abaixo da superfície da água, com a boca para baixo. Direcionar a boca do frasco para a corrente de água e elevar ligeiramente, para que a água fique retida. Se não houver corrente de água, empurrar o frasco para frente horizontalmente, no sentido contrário ao da mão.
- d) Amostras de água clorada devem ter o cloro residual neutralizado imediatamente após a coleta, para impedir a continuação do seu efeito bactericida sobre a microbiota presente. Para tanto, adicionar aos frascos de coleta, antes da esterilização, 0,1 ml de uma solução 3% de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), para cada 100 ml de amostra que se pretende coletar. Essa

quantidade é suficiente para neutralizar 5 mg de cloro residual por litro de amostra. Nas situações em que a concentração de cloro residual seja superior a 5 mg/l, utilizar 0,1 ml de uma solução 10% de tiosulfato de sódio, para cada 100 ml de amostra que se pretende coletar. Essa quantidade é suficiente para neutralizar 15 mg de cloro residual por litro de amostra. Podem também ser utilizadas bolsas plásticas ou frascos estéreis, disponíveis comercialmente já contendo o tiosulfato de sódio. Se a amostra for coletada e enviada ao laboratório pelo próprio interessado, sem a prévia neutralização do cloro, adicionar a solução de tiosulfato de sódio estéril imediatamente após a chegada da amostra, sob condições assépticas.

1.4. Transporte e estocagem de amostras até o momento da análise

Como regra geral, deve-se transportar e estocar amostras de alimentos da mesma forma como o produto é normalmente transportado e estocado na sua comercialização. As orientações abaixo devem ser observadas para garantir a integridade do produto até o momento das análises:

1.4.1. Transporte e estocagem de alimentos com baixa atividade de água

Alimentos desidratados, secos ou concentrados são estáveis microbiologicamente, podendo ser transportados e estocados à temperatura ambiente. Devem, entretanto, ser protegidos contra a umidade.

1.4.2. Transporte e estocagem de alimentos congelados

Amostras de alimentos comercializados na forma congelada devem ser transportadas e mantidas congeladas até o momento da análise, não podendo sofrer descongelamento total ou parcial durante o transporte. O capítulo 2 do *Compendium* (Taylor *et al.*, 2015) recomenda que a temperatura

de estocagem dessas amostras não seja superior a 20 °C negativos. A ISO 7218:2007/Amd.1:2013 recomenda temperatura de 15 °C negativos, de preferência 18 °C negativos.

O transporte deve ser feito em caixas de isopor com gelo seco, porém, certos cuidados devem ser observados. O produto não deve entrar em contato com o gelo seco porque a absorção do CO₂ pode alterar o pH. Se a tampa da embalagem não vedar a entrada de gases e/ou se embalagem for permeável aos gases e/ou se tornar quebradiça com o frio, deve-se usar uma embalagem secundária. Geralmente um embrulho em papel grosso é suficiente para prevenir esse problema.

Rótulos e etiquetas usados na identificação das amostras devem ser à prova d'água, para prevenir a perda dos dados.

1.4.3. Transporte e estocagem de alimentos refrigerados

Amostras de alimentos comercializados na forma refrigerada devem ser transportados e mantidos sob refrigeração desde a coleta até o momento da análise. O capítulo 2 do *Compendium* (Taylor *et al.*, 2015) recomenda, como regra geral, transporte e estocagem entre 0 e 4 °C e intervalo máximo de 36 horas entre a coleta e a análise. A ISO 7218:2007/Amd.1:2013 recomenda transporte entre 1 °C e 8 °C, estocagem a 3±2 °C e intervalo máximo de 36h entre a coleta e a análise (24h no caso de amostras altamente perecíveis). Na impossibilidade de se proceder à análise no intervalo de tempo preconizado, as amostras devem ser congeladas e mantidas nas mesmas condições descritas para amostras congeladas (item 1.4.2), desde que o congelamento não interfira na recuperação do(s) microrganismo(s) alvo (vide item 1.4.3.1. exceções abaixo).

O capítulo 2 do *Compendium* (Taylor *et al.*, 2015) recomenda que o transporte seja feito em caixas de isopor com gelo, sendo recomendável o uso de sachês de gelo reutilizável em gel, para evitar o acúmulo de líquido nas caixas. Na indisponibilidade de gelo em gel, pode ser utilizado gelo comum, desde que acondicionado em bolsas plásti-

cas. Caixas bem fechadas, com espaço amplo para gelo, suficiente para envolver todos os frascos de amostra, podem manter temperaturas de refrigeração adequadas por até 48 horas, na maioria das situações. Como regra geral, essas amostras não devem ser congeladas, por isso, não é recomendável o uso de gelo seco nas caixas de isopor. Se o tempo de trânsito for prolongado e houver necessidade de usar gelo seco, as embalagens de amostras não devem entrar em contato direto com as embalagens de gelo seco, para evitar o congelamento. Rótulos e etiquetas usados na identificação das amostras devem ser a prova d'água, para prevenir a perda dos dados.

1.4.3.1. Exceções. Para certos produtos ou microrganismos as recomendações são diferenciadas:

- a) No capítulo específico para bactérias lácticas o congelamento não é recomendado, devido à grande susceptibilidade desses microrganismos às injúrias pelo congelamento.
- b) No capítulo específico para vibrios patogênicos recomenda-se que as amostras sejam estocadas sob resfriamento moderado (7-10 °C) e analisadas entre 24 e 48h após a coleta. O contato direto com gelo deve ser evitado, porque as células podem ser injuriadas se o resfriamento for rápido. O congelamento das amostras é desaconselhado e, em caso de absoluta necessidade, deve ser feito a 80 °C negativos.
- c) No caso de *C. perfringens* devem ser analisadas, se possível, imediatamente, pois a estocagem por poucos dias sob refrigeração ou congelamento pode levar a uma redução de três a cinco ciclos logarítmicos na contagem em placas. Na impossibilidade de se proceder à análise imediata, o capítulo 33 do *Compendium* (Labbé, 2015) recomenda que sejam refrigeradas pelo menor tempo possível, não devendo ser congeladas ou mantidas sob refrigeração prolongada. Havendo necessidade de estocagem por mais de 48 horas, tratar as amostras com Solução Tamponada Glicerol Sal (na quantidade requerida para atingir a concentração final de 10% na amostra) e estocar entre 55 e 60 °C negativos.
- d) No capítulo específico para *Campylobacter* a ISO 10272-1:2006 destaca a sensibilidade de *Campylobacter* ao congelamento e à secagem, recomendando que as amostras não sejam congeladas e que sejam protegidas contra a perda de umidade. Indica estocagem à 3±2 °C e análise o mais rápido possível. O *Bacteriological Analytical Manual* (Hunt *et al.*, 2001) destaca que *Campylobacter* é sensível ao ar, secagem, baixo pH, aquecimento, congelamento e estocagem prolongada, podendo sofrer injúrias que dificultam a detecção. Células velhas ou estressadas gradualmente adquirem forma cocoide e se tornam mais difíceis de cultivar. Para estocagem prolongada, *C. jejuni* subsp *jejuni* pode sobreviver duas a quatro semanas sob refrigeração (4 °C), se for garantida baixa tensão de oxigênio e proteção contra perda de umidade (exceto no caso de leite cru). Nas mesmas condições, também pode sobreviver dois a cinco meses a 20 °C negativos. Outras espécies, nas mesmas condições, podem sobreviver (mas não se multiplicar) uma a três semanas a 4 °C (exceto no caso de leite cru). A população diminui dois ciclos logarítmicos a 20 °C negativos, mas os sobreviventes podem ser recuperados após mais de cinco meses. Uma vez abertos os frascos ou embalagens, a análise deve ser feita o mais rápido possível, porque a introdução de oxigênio é particularmente deletéria para as células, já debilitadas pela estocagem prolongada.
- e) No capítulo específico para contagem de aeróbios psicrotróficos, recomenda-se que as amostras sejam analisadas no intervalo de seis horas, a partir da coleta. A estocagem refrigerada permite a multiplicação dos psicrotróficos e o tempo de geração de vários desses microrganismos encontra-se dentro desse intervalo. O congelamento não é indicado para essas amostras, porque pode provocar injúria ou morte de vários microrganismos. Se o congelamento for indispensável considerar na avaliação dos resultados que parte da microbiota pode ter sido perdida.
- f) Segundo o capítulo 46 do *Compendium* (Ricke *et al.*, 2015), amostras de ovo líquido refrige-

rado devem ser analisadas, se possível, dentro de quatro horas após a coleta, não devendo ser congeladas.

- g) Segundo o capítulo 51 do *Compendium* (Pérez-Díaz *et al.*, 2015), amostras de produtos vegetais fermentados ou acidificados não comercialmente estéreis devem ser estocadas sob refrigeração por não mais do que 24 horas.

1.4.4. Transporte e estocagem de alimentos comercialmente estéreis em embalagens herméticas

Alimentos comercialmente estéreis com embalagens em condições normais, podem ser transportados e estocados à temperatura ambiente, devendo ser protegidos contra exposição a temperaturas superiores a 40 °C (ISO 7218:2007/Amd.1:2013). Refrigerantes engarrafados, comercializados à temperatura ambiente, também podem ser transportados e estocados nessas condições.

Segundo o capítulo 51 do *Compendium* (Parkinson & Francis, 2015), embalagens estufadas devem ser acondicionadas em bolsas plásticas devido ao perigo de vazamento de material de alto risco microbiológico. O transporte e a estocagem podem ser feitos sob refrigeração, para prevenir explosão, mas se houver suspeita de deterioração por bactérias termófilas, lembrar que a refrigeração pode destruir as células vegetativas.

1.4.5. Transporte e estocagem de amostras de água

O Capítulo 60 do *Compendium* (Robin & Feng, 2015) recomenda:

- a) Para água engarrafada na embalagem original, lacrada, transporte e estocagem à temperatura ambiente, sem necessidade de refrigeração. Não há exigências quanto ao intervalo de tempo entre a coleta e a análise.
- b) Para embalagens abertas ou amostras transferidas para outros frascos, transporte e estoca-

gem sob refrigeração e intervalo entre coleta e análise preferencialmente de 8h, não devendo ultrapassar 24h.

Para outros tipos de água, a parte 9060B da 22ª edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Hunt, 2012) traz a seguinte orientação:

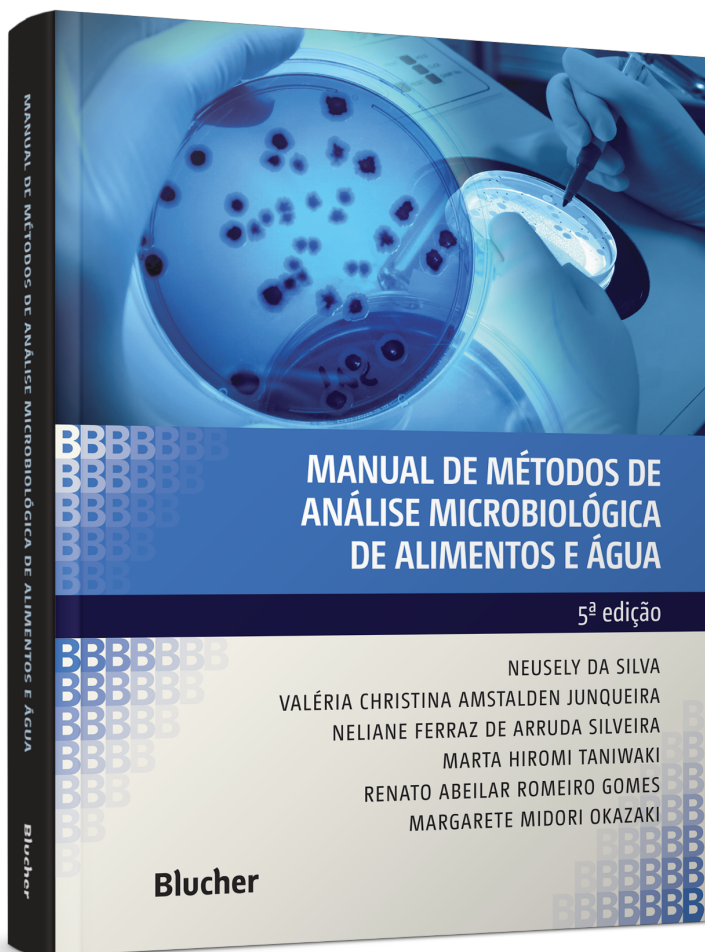
- c) Como regra geral, transporte e estocagem sob refrigeração (menor que 8 °C sem congelar) e intervalo entre coleta e análise não superior a 24h.
- d) Para avaliação da conformidade de água potável, transporte e estocagem sob refrigeração (menor que 8 °C sem congelar) e intervalo entre coleta e análise não superior a 30h, para quantificação de coliformes, ou 8h, para a quantificação de heterotróficos (contagem total de aeróbios mesófilos em placas).
- e) Para a avaliação da conformidade de água não potável, transporte e estocagem sob refrigeração (menor que 8 °C sem congelar) e intervalo entre coleta e análise não superior a 6h.

1.5. Recepção de amostras para análise

Na recepção de amostras para análise no laboratório, devem ser observadas as condições da embalagem e as condições em que foi feito o transporte, antes da aceitação do pedido de análise. Deve ser recusada qualquer amostra com embalagem rasgada, furada, violada, com corpos estranhos ou qualquer outro tipo de defeito, bem como amostras transportadas sob condições inadequadas. Se o interessado estiver encaminhando amostra com embalagem já aberta ou com selo violado (comum no caso de amostras encaminhadas para responder à reclamações de consumidores, por exemplo), pode-se proceder à análise, dependendo do tipo de embalagem, tipo de produto e microrganismos investigados, porém, as condições em que a amostra foi recebida devem constar da identificação da amostra e do laudo final de análise.

1.6. Referências

- HUNT, J.M., ABEYTA, C. & TRAN, T. *Campylobacter*. In: U S Food and Drug Administration (FDA), *Bacteriological Analytical Manual*. [Online], disponível no site: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072616.htm> [acesso em 15/09/16]. Chapter 7, revised March 2001.
- HUNT, M.E., 2012. Microbiological examination. In: RICE, E.W., BAIRD, R.B., EATON, A.D. & CLESCERI, L.S. (Eds), *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, 22nd Ed. Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF). Part 9000, p.9.1-9.224.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods), 2002. *Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (ISBN0-306-47262-7).
- ISO 6887-4. Microbiology of the food chain – *Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products*. 2nd edition, 2017. The International Organization for Standardization.
- ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs – *General requirements and guidance for microbiological examination*. 3rd edition, 2007, Amendment 1, 2013. The International Organization for Standardization.
- ISO 10272-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – *Horizontal method for the detection and enumeration of Campylobacter – Part 1: Detection Method*, 1th ed. The International Organization for Standardization, 2006.
- LABBE, R.G. *Clostridium perfringens*. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D. C., 2015. Chapter 33, pp.403-409.
- PARKINSON, N.G & FRANCIS, K., 2015. Canned foods – tests for cause of spoilage. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D. C. Chapter 62, pp.805-821.
- PÉREZ-DIAZ, I.M., BREIDT, F. JR., BUESCHER, R.W. et al., 2015. Fermented and acidified vegetables. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D. C. Chapter 51, pp.697-718.
- RICKE, S.C., JONES, D.R. & GAST, R.K., 2015. Egg and egg products. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D. C. Chapter 46, p.633-643.
- ROBIN, L.P. & FENG, P., 2015. Bottled water. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. American Public Health Association, Washington, D. C. Chapter 60, pp.791-796.
- SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2015.
- TAYLOR, T.M., SOFOS, J.N., BODNARUK, P & ACUFF, G.R., 2015. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. In: SALFINGER, Y. & TORTORELLO, M.L. (eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 5th ed. Washington: American Public Health Association (APHA). Chapter 2, pp.13-25.
- WEHR, H.M. & FRANK, J.F. (eds.). *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 17th ed. American Public Health Association, Washington, 2004.



Clique aqui e:

Veja na loja

Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água 5ª edição

Neusely da Silva [et al.]

ISBN: 9788521212256

Páginas: 535

Formato: 20,7 x 27,4 cm

Ano de Publicação: 2017

Peso: 1.250 kg