

A Rotina Diária de um Laboratório de Microbiologia Acreditado

Catarina Alexandra Saraiva Simão

Relatório apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar, realizado sob a orientação científica da Professora Doutora Cristina Santos Pintado, Professora da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco e Mestre Maria Cristina Antão Santos Carvalho, diretora Laboratório.

Agradecimentos

Terminado este trabalho agradeço

À Escola Superior Agrária, na pessoa do Senhor Diretor, Professor Doutor Celestino de Almeida, por todos os meios disponibilizados para a realização deste trabalho.

À Professora Doutorada Cristina Santos Pintado minha orientadora, por toda a disponibilidade na orientação no trabalho e revisão do texto.

À Mestre Maria Cristina Antão Santos Carvalho, diretora do Laboratório Equilibrium, por me ter aceitado para realização do estágio no seu laboratório.

À minha coordenadora Andreia Rocha, por toda a paciência que teve comigo para me orientar durante todo o estágio e por toda a sua preciosa ajuda. Grande parte do que sei hoje por em prática foi graças a ela.

À Cláudia por toda a ajuda prestada durante o estágio.

À Leonor por me ajudar quando eu mais tinha dúvidas.

A todas as pessoas que fazem parte do laboratório, por me fazerem sentir bem e integrada durante este tempo de estágio.

À Clénira, minha colega de turma e grande amiga por toda a força que me deu.

À Marta e Sara, minhas amigas pela amizade.

À Tatiana minha colega de casa, pela ajuda na formatação.

Ao Nuno por todo o apoio durante todo este tempo.

Aos meus pais e irmã pelo apoio, incentivo, carinho e confiança em mim.

A TODOS O MEU MUITO OBRIGADO

A Rotina Diária de um Laboratório de Microbiologia Acreditado

RESUMO

Cada vez mais são realizadas nos laboratórios europeus análises microbiológicas de águas, do ambiente e de produtos alimentares. Estes laboratórios têm como objetivo controlar a qualidade microbiológica das matérias-primas, assim como a qualidade dos produtos finais. Os laboratórios controlam a qualidade dos produtos que chegam para análise, a fim de saber se cumprem as orientações e normas nacionais ou internacionais. Vários parâmetros são analisados consoante o tipo de amostra e aquilo que o cliente solicita para analisar. Cabe ao laboratório dar resultados da análise de águas e alimentos ao cliente, com o maior rigor possível que é exigido a um laboratório acreditado.

Com este trabalho pretendeu-se acompanhar a rotina laboratorial de um laboratório de Microbiologia acreditado e, desta forma, aprofundar os conhecimentos previamente adquiridos na Licenciatura no âmbito da análise microbiológica de águas e alimentos.

Verificou-se que o certificado de acreditação aplicado nesta empresa é exigente.

Palavra-chave: Acreditação, Microrganismos, Análises de água, Análises de alimentos.

(Um resumo tem de ter os objetivos do trabalho, metodologias e principais resultados)

The daily routine of a microbiology laboratory accredited

ABSTRACT

Increasingly are performed in European laboratories microbiological analysis of water, environment and food.

These labs are designed to control the microbiological quality of raw materials, as well as the quality of final products. The labs control the quality of products reaching for analysis in order to know whether they meet the guidelines and national or international standards. It is important to meet these standards. Several parameters are analyzed according to the type of sample and what the customer willing to analyze.

It is for the laboratory analysis results to the client with the best possible accuracy that is required of an accredited laboratory.

With this work we intended to follow the routine of a laboratory accredited microbiology laboratory and thus deepen the knowledge previously acquired in the Bachelor in the microbiological analysis of water and food.

It was found that the certificate of accreditation applied in this company is demanding.

Keywords: Accreditation, microorganisms, water analysis, food analysis.

ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE GERAL	v
Índice de figuras	vii
Índice de tabelas.....	viii
Lista de abreviaturas	ix
Índice de anexos	x
1. Introdução	1
2. Acreditação.....	2
2.1. Requisitos para a acreditação.....	2
2.2. Norma NP EN ISO /IEC 17025 “Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração”	2
3. Implicações de resultados incorretos	3
4. Garantia da qualidade	3
5. Atividades desenvolvidas no laboratório	4
5.1. Material	4
5.2. Meios de cultura	5
6. Análises microbiológicas de águas.....	8
6.1. Água destinada ao consumo Humano	8
6.2. Tratamento das amostras	9
6.2.1. Análise de bactérias coliformes totais.....	10
6.2.2. Análise de <i>Escherichia coli</i>	10
6.2.3. Análise de <i>Clostridium perfringens</i>	11
6.2.4. Análise de Enterococos	11
7. Parâmetros e valores paramétricos para águas de consumo Humano.....	12
8. Análise de dados- análises microbiológicas de águas	13
8.1. Emissão de resultados	14
9. Análises microbiológicas de alimentos.....	16
9.1. Fatores que influenciam a multiplicação microbiana	16

9.1.1.	Fatores intrínsecos	16
9.1.2.	Fatores extrínsecos	17
9.2.	Flora microbiana habitual nos alimentos	17
10.	Preparação da amostra para análise	18
11.	Parâmetros analisados	19
11.1.	Quantificação de microrganismos a 30°C	19
11.2.	Quantificação de bolores e leveduras	19
11.3.	Quantificação de coliformes a 30°C.....	19
11.4.	Quantificação de <i>E. coli</i> β -glucuronidase positiva	20
11.5.	Quantificação de Estafilococos Coagulase Positiva	21
11.6.	Quantificação de <i>Enterobacteriacease</i>	22
11.7.	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	22
11.8.	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	23
12.	Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos	23
12.1.	Tipos de critérios microbiológicos.....	24
13.	Análise de dados- Análises microbiológicas de alimentos	25
14.	Considerações finais	28
	Referências bibliográficas	29

Índice de figuras

Figura 1 Resultados positivos de cada um dos parâmetros analisados durante o período de 26/07/2012 até 21/09/2012.	13
Figura 2 Material devidamente esterilizado para preparação da amostra.....	18
Figura 3 Câmara de segurança biológica- área de preparação de alimentos.....	18
Figura 4 Fluxograma de procedimentos para análise microbiológica de bolores e leveduras	19
Figura 5 Fluxograma do procedimento para quantificação de coliformes a 30°C	20
Figura 6 Fluxograma do procedimento para quantificação de Escherichia coli β - glucuronidase positiva	21
Figura 7 Fluxograma do procedimento da quantificação de estafilococos coagulase positiva	22

Índice de tabelas

Tabela 1 Alguns dos aspetos que devem fazer parte da rotina de um laboratório acreditado.	2
Tabela 2 Classificação dos meios de cultura relativamente ao estado físico; composição química e objetivos funcionais.	6
Tabela 3 Controlos de rotina microbiológicos para águas de consumo Humano e os seus respetivos parâmetros que deverão ser analisados.	9
Tabela 4 Parâmetro a analisar e respetivos meios seletivos, usados para a sua análise	10
Tabela 5 Valores paramétricos para águas de consumo Humano	12
Tabela 6 Parâmetros analisados e respetivos resultados	14
Tabela 7 Exemplo de boletim de resultados para água imprópria para consumo	14
Tabela 8 Exemplo de boletim de resultados de água própria para consumo	15
Tabela 9 Exemplo de boletim de resultados de água própria para consumo, apresentando algum crescimento.	15
Tabela 10 Valores Guia para a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados prontos a comer	25
Tabela 11 Resultados microbiológicos para tripas e bucho.	26
Tabela 12 Resultados microbiológicos para carne fresca de bovino.	26
Tabela 13 Resultados microbiológicos para refeição- Arroz de cenoura com carne.	27
Tabela 14 Resultados microbiológicos para bolo de bolacha.	27

Lista de abreviaturas

EU	União Europeia
OMS	Organização Mundial de Saúde
IPAC	Instituto Português de Acreditação
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
SPQ	Sistema Português da Qualidade
IPQ	Instituto Português da Qualidade
A_w	Atividade da água
WPCA	<i>Water Plate Count Agar</i>
UFC	Unidade Formadora de Colónias
MLSA	<i>Membrane Lauril Sulfate Agar</i>
SB	<i>Slanetz e Bartley</i>
DRBC	<i>Dichloran-rose bengal chloranphenicol agar</i>
DG18	<i>Dichloran 18% glycerol agar</i>
VRBL	<i>Violet Red Bile Lactose</i>
TBX	<i>Tryptona Bile Glucuronídeo</i>
ALOA	<i>Agar Listeria Ottaviani Agosti</i>

Índice de anexos

Anexo I- Fluxograma do método de incorporação realizado para a análise microbiológica de microrganismos a 22°C e 37°C pelo método de incorporação.	30
Anexo II- Fluxograma do procedimento experimental para a pesquisa de <i>Salmonella</i> segundo a norma ISO 6579:2002.	31
Anexo III- Grupos de alimentos prontos a comer, segundo classificação atribuída pelo INSA.	33