



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Caracterização de isolados bacterianos de origem alimentar

Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar

Cláudia Susano Almeida

Orientador Interno: Prof.^a Cristina Maria Baptista Santos Pintado
Orientador Externo: Eng.^o Vítor Manuel Amaro Lopes

Junho 2014



Caracterização de isolados bacterianos de origem alimentar

Cláudia Susano Almeida

Orientador Interno: Prof.^a Cristina Maria Baptista Santos Pintado

Orientador Externo: Eng.^o Vítor Manuel Amaro Lopes

Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Cristina Maria Baptista Santos Pintado, Professora da Escola Superior Agrária de Instituto Politécnico de Castelo Branco e do Engenheiro Vítor Amaro Lopes, da empresa Aquimisa - Consultores Agro-Industriais Lda. em Castelo Branco.

Junho 2014

“ As doutrinas expressas neste trabalho são da inteira responsabilidade do seu autor.”

Agradecimentos

Aos meus pais e irmã, o meu maior agradecimento por todo o carinho, apoio e, sobretudo por toda a paciência que sempre tiveram ao longo destes três anos de curso, tendo, no entanto, a plena consciência que com a conclusão da minha formação académica apenas retribuo uma parte infinitesimal de tudo o que já me deram.

Aos meus amigos pelo apoio excepcional que me deram nesta minha etapa, sem eles nunca teria acreditado que realmente era capaz.

A todo o pessoal do laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária, apresento a minha gratidão pela amizade, pela sua máxima disponibilidade para me orientarem na execução das análises efetuadas e me ajudarem na conclusão do meu estudo, especialmente à Engenheira Manuela.

A todos os profissionais da empresa Aquimisa, o meu sincero agradecimento pela simpatia com que sempre me trataram e a disponibilidade dispensada na partilha de conhecimentos.

À Professora Cristina Pintado por ter aceite trabalhar comigo e pela simpatia com que sempre me recebeu, as sugestões, as críticas e a revisão do trabalho.

Por fim, e não menos importante, ao meu perfeito namorado, pela paciência, ajuda e compreensão com que me presenteou estes dias.

Foi essencial a ajuda de todos para adquirir uma grande aprendizagem tanto a nível profissional como pessoal, terminando mais uma etapa com sucesso. Um sincero obrigada!!

Palavras-chave

Listeria monocytogenes, *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva, caracterização fenotípica

Resumo

O estágio foi realizado nos primeiros três meses no Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária de Castelo Branco, onde se precedeu à caracterização de isolados de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus* coagulase positiva, provenientes de amostras de origem alimentar e de superfícies analisadas na Aquimisa. As placas de isolados foram gentilmente fornecidos pela empresa Aquimisa, onde decorreram os três meses posteriores. Nesta empresa foi acompanhada a rotina laboratorial, em particular no que toca à preparação do material e dos meios de cultura, reagentes e diluentes usados no Laboratório de Microbiologia da Aquimisa.

Foram obtidos um total de 62 isolados (16 de *Staphylococcus* coagulase positiva, 38 de *Listeria monocytogenes*, 4 de *L. innocua*, 2 de *L. ivanovii* e 2 de *Salmonella* spp.), os quais foram caracterizados utilizando testes adequados a cada microrganismo. Uma seleção destes isolados foram posteriormente conservados pelo método da crioconservação (-80°C), para posterior caracterização molecular e de susceptibilidade a antibióticos e desinfetantes.

Keywords

Listeria monocytogenes, *Salmonella* spp, *Staphylococcus coagulase positive*.

Abstract

The stage was performed in the first three months in the Laboratory of Microbiology, School of Agriculture, White Castle, where it preceded the characterization of isolates of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp and *Staphylococcus coagulase positive*, samples from foodborne and surfaces analyzed in Aquimisa . The plates of isolates were kindly provided by the company Aquimisa, which took place three months later. In this company, the standard procedure was followed, in particular as regards the preparation of materials and culture media, reagents and solvents used in the Laboratory of Microbiology of Aquimisa. A total of 62 isolates (16 coagulase positive, 38 *Listeria monocytogenes*, *L. innocua* 4, 2 of *L. ivanovii* 2 and *Salmonella* spp.), Which were characterized using appropriate for each test organism were obtained. A selection of these isolates were subsequently retained by the cryopreservation (-80 ° C) for further molecular characterization and susceptibility to antibiotics and disinfectants method.

Índice geral:

1.	Introdução.....	1
2.	Apresentação da Aquimisa.....	2
3.	Características dos microrganismos em estudo.....	3
3.1	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	3
3.2	<i>Salmonella</i> spp.....	4
3.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	5
4.	Testes de confirmação.....	7
4.1	Coloração de Gram.....	7
4.2	Teste da Catalase.....	8
4.3	Agar - ALOA.....	8
4.4	Teste da Mobilidade.....	9
4.5	API- <i>Listeria</i>	10
4.6	Meio Triple Sugar Iron (TSI).....	11
4.7	Prova da Oxidase.....	12
4.8	Iluminação de Henry.....	13
5.	Acompanhamento da rotina laboratorial na AQUIMISA.....	14
5.1	Transporte e armazenamento das amostras.....	14
5.2	Receção e registo de amostras.....	14
5.3	Meios de cultura.....	14
5.4	Análises Microbiológicas.....	15
6.	Caracterização fenotípica e conservação de isolados bacterianos.....	15
6.1	Purificação e confirmação de isolados de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva 15	
6.2	Purificação e caracterização de isolados de <i>Listeria monocytogenes</i>	17
6.3	Purificação e caracterização de isolados de <i>Salmonella</i> spp.	24
6.4	Crioconservação de culturas bacterianas.....	25
7.	Considerações Finais.....	26
8.	Referências Bibliográficas.....	28

