



Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Escola Superior Agrária

## **Relatório de Estágio**

# **Análises Microbiológicas a Refeições Prontas a Comer**

**Teresa Regina Gonçalves Freitas**

**Engenharia Biológica e Alimentar**

**Orientador Interno (ESA):  
Dr.<sup>a</sup> Cristina Pintado**

**Orientador Externo (INSA):  
Dr.<sup>a</sup> Rosália Furtado**

**Castelo Branco, Abril de 2009**



Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Escola Superior Agrária

## **Relatório de Estágio**

# **Análises Microbiológicas a Refeições Prontas a Comer**

**Teresa Regina Gonçalves Freitas**

**Engenharia Biológica e Alimentar**

**Orientador Interno (ESA):  
Dr.<sup>a</sup> Cristina Pintado**

**Orientador Externo (INSA):  
Dr.<sup>a</sup> Rosália Furtado**

**Castelo Branco, Abril de 2009**

*«As doutrinas expressas neste trabalho são  
da inteira responsabilidade do seu autor»*

**Título:** Análises microbiológicas a refeições prontas a comer

**Local de realização do estágio:** Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

**Orientador Interno (ESA):** Dr.<sup>a</sup> Cristina Pintado

**Orientador Externo (INSA):** Dr.<sup>a</sup> Rosália Furtado

## **Agradecimentos**

A realização deste trabalho tornou-se possível graças à colaboração de inúmeras pessoas, às quais quero agradecer e prestar um sincero reconhecimento.

Agradeço à Dr.<sup>a</sup> Cristina Pintado (Escola Superior Agrária de Castelo Branco) por me ter proporcionado a realização deste estágio.

Agradeço à Dr.<sup>a</sup> Rosália Furtado (Laboratório de Microbiologia dos Alimentos – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge) por me ter recebido e orientado no decorrer do mesmo, pelo esclarecimento de dúvidas, pela disponibilidade e amizade.

Agradeço a todas as pessoas do laboratório: Dr.<sup>a</sup> Maria do Rosário Novais, Dr.<sup>a</sup> Maria Isabel Silva Santos, Eng.<sup>a</sup> Cristina Belo Correia, Eng.<sup>a</sup> Carla Maia, Dr. Nuno Rosa, Tec.<sup>a</sup> Maria Loreto Campos, Tec.<sup>a</sup> Isilda Ferreira, Aux. Madalena Ferreira, Aux. Helena Maria Marques que estiveram sempre disponíveis a ajudarem.

Agradeço à Fernanda Oliveira pela amizade e companheirismo.

Agradeço aos meus pais, Virgínia e José Policarpo, que sempre apoiaram e incentivaram, nunca deixando de acreditar em mim apesar da distância ao longo destes últimos anos.

Agradeço aos meus irmãos, José Manuel, Celestino e respectivas famílias.

Agradeço ao meu avô e àquela que há-de ser sempre a tia Maria, não esquecendo a minha madrinha Teresa.

Agradeço a toda a minha restante família.

Em especial, agradeço à minha prima, que também é minha madrinha e amiga, Lina Batista e sua família, que me acompanhou e apoiou incondicionalmente durante os últimos anos.

Agradeço ao João Pedro e à sua família pelo apoio ao longo deste estágio.

**A todos, um muito obrigada!**

# Índice

|   |     |
|---|-----|
| Índice de Tabelas.....  | iv  |
| Índice de Figuras.....  | v   |
| Resumo.....   | vi  |
| Abstract.....   | vii |
| <br>  |     |
| 1. Introdução.....  | 1   |
| 2. Parte experimental.....  | 2   |
| 2.1.Laboratório de microbiologia dos alimentos.....               | 2   |
| 2.2.Marcha geral da análise microbiológica.....                   | 3   |
| 2.3.Colheita de amostras.....                                     | 3   |
| 2.3.1.Refeições prontos a comer.....                              | 3   |
| 2.3.2. Esfregaços.....  | 5   |
| 2.4.Microrganismos estudados.....                                 | 5   |
| 2.5.Materiais e Métodos.....                                      | 6   |
| 2.5.1. Contagem de microrganismos totais a 30°C.....              | 6   |
| 2.5.2. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> .....                | 7   |
| 2.5.2.1. Provas de confirmação.....                               | 7   |
| 2.5.3. Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....                  | 8   |
| 2.5.3.1.Pesquisa de factores de patogenicidade.....               | 9   |
| 2.5.4. Contagem de <i>Clostridium Perfringens</i> .....           | 9   |
| 2.5.4.1.Confirmação de <i>Clostridium perfringens</i> .....       | 10  |
| 2.5.5. Contagem de <i>Bacillus cereus</i> .....                   | 10  |
| 2.5.5.1. Provas de confirmação.....                               | 11  |
| 2.5.6. Contagem de Estafilococos coagulase positiva.....          | 11  |
| 2.5.6.1. Provas de confirmação.....                               | 12  |
| 2.5.7. Contagem de Fungos.....                                    | 12  |
| 2.5.8. Contagem e pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> ..... | 13  |
| 2.5.9. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....                     | 14  |
| 2.5.10. Esfregaços.....   | 16  |
| 3. VIDAS – BioMérieux.....  | 17  |
| 4.TEMPO – BioMérieux.....   | 18  |
| 5. Outras Pesquisas.....  | 20  |

|   |    |
|---|----|
| 5.1. Pesquisa de <i>Yersinia enterocolitica</i> .....       | 20 |
| 5.1.1. Esquema de pesquisa.....                             | 20 |
| 5.2. Pesquisa de <i>Enterobacter sakazakii</i> .....        | 21 |
| 5.2.1. Esquema de pesquisa.....                             | 21 |
| 5.3. Pesquisa de <i>Campylobacter</i> spp.....              | 22 |
| 5.3.1. Esquema de pesquisa.....                             | 22 |
| 5.4. Pesquisa de <i>E. coli</i> O157:H7.....                | 23 |
| 5.4.1. Esquema de pesquisa.....                             | 23 |
| 6. Resultados.....  | 24 |
| 6.1. Resultados das análises efectuadas aos alimentos.....  | 24 |
| 6.2. Resultados das análises efectuadas aos esfregaços..... | 29 |
| 7. Conclusão.....   | 31 |
| 8. Referencias Bibliográficas.....                          | 32 |
| Anexos  |    |

## Índice de Tabelas

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 – Áreas do laboratório de microbiologia dos alimentos.....   | 2  |
| Tabela 2 – Microrganismos estudados no LMA do INSA.....   | 6  |
| Tabela 3 – Contagem de microrganismos totais a 30°C.....  | 6  |
| Tabela 4 – Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> .....  | 7  |
| Tabela 4.1 – Confirmação de <i>Enterobacteriaceae</i> .....   | 7  |
| Tabela 5 – Contagem de <i>E.coli</i> .....  | 8  |
| Tabela 5.1 – Pesquisa de factores de patogenicidade.....  | 9  |
| Tabela 6 – Contagem de <i>Clostridium perfringens</i> .....   | 9  |
| Tabela 6.1 – Confirmação de <i>Clostridium perfringens</i> .....  | 10 |
| Tabela 7 – Contagem de <i>Bacillus cereus</i> .....   | 10 |
| Tabela 7.1. Confirmação de <i>Bacillus cereus</i> .....   | 11 |
| Tabela 8 – Contagem de Estafilococos coagulase positiva.....  | 11 |
| Tabela 8.1 – Confirmação de Estafilococos coagulase positiva.....   | 12 |
| Tabela 9 – Contagem de Fungos.....  | 13 |
| Tabela 10 – Contagem e pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> .....                                      | 13 |
| Tabela 11 – Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....  | 14 |
| Tabela 12 – Técnica dos esfregaços.....   | 16 |
| Tabela 13 – Divisão dos alimentos por grupos.....   | 24 |
| Tabela 14 – Níveis de qualidade microbiológica.....   | 25 |
| Tabela 15 – Apreciação de resultados obtidos a partir das análises efectuadas aos alimentos do grupo 1..... | 25 |
| Tabela 16 – Apreciação de resultados obtidos a partir das análises efectuadas aos alimentos do grupo 2..... | 27 |
| Tabela 17 – Apreciação de resultados obtidos a partir das análises efectuadas aos alimentos do grupo 3..... | 28 |
| Tabela 18 – Níveis de qualidade microbiológica nos esfregaços.....  | 29 |
| Tabela 19 – Apreciação de resultados obtidos a partir das análises microbiológicas aos esfregaços.....      | 30 |

## Índice de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Procedimentos efectuados durante uma colheita de alimentos.....  | 4  |
| Figura 2 – Procedimentos efectuados durante a execução de um esfregaço..... | 5  |
| Figura 3 – Microrganismos a 30°C.....                                       | 6  |
| Figura 4 – <i>Enterobacteriaceae</i> .....                                  | 7  |
| Figura 5 – <i>Escherichia coli</i> .....                                    | 8  |
| Figura 6 – <i>Clostridium perfringens</i> .....                             | 9  |
| Figura 7 – <i>Bacillus cereus</i> .....                                     | 10 |
| Figura 7.1 – Hemólise.....  | 11 |
| Figura 8 – Estafilococos coagulase positiva.....                            | 11 |
| Figura 8.1 – Coagulase.....   | 12 |
| Figura 9 – Bolors.....  | 12 |
| Figura 10 – Leveduras.....  | 12 |
| Figura 11 – <i>Listeria monocytogenes</i> .....                             | 13 |
| Figura 11.1 – Caldo Fraser.....   | 14 |
| Figura 12 – Meios de Enriquecimento.....                                    | 14 |
| Figura 13 – Meio M.....   | 15 |
| Figura 14 – Meios XLD e SM ID II.....                                       | 15 |
| Figura 15 – Meio TSI.....   | 15 |
| Figura 16 – VIDAS.....  | 17 |
| Figura 17 – Estação de preparação TEMPO.....                                | 18 |
| Figura 18 – Estação de leitura TEMPO.....                                   | 19 |
| Figura 19 – <i>Yersinia enterocolitica</i> .....                            | 20 |
| Figura 20 – <i>Enterobacter sakazakii</i> .....                             | 21 |
| Figura 21 – <i>Campylobacter</i> spp.....                                   | 22 |
| Figura 22 – <i>E.coli</i> O157:H7.....                                      | 23 |
| Figura 23 – Apreciação de resultados dos alimentos do grupo 1.....          | 26 |
| Figura 24 – Apreciação de resultados dos alimentos do grupo 2.....          | 27 |
| Figura 25 – Apreciação de resultados dos alimentos do grupo 3.....          | 28 |
| Figura 26 – Apreciação de resultados dos esfregaços.....                    | 30 |

## Resumo

O presente relatório refere-se ao estágio realizado no âmbito do 3º ano do Curso de Engenharia Biológica e Alimentar que decorreu no Laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Departamento de Alimentação e Nutrição do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Este estágio, com a duração de 6 meses, iniciou-se a 1 de Setembro de 2008 e terminou a 27 de Fevereiro de 2009.

Durante este período, além do trabalho diário de laboratório, foram feitas visitas a vários tipos de unidades de restauração colectiva onde se procedeu à colheita de amostras de refeições prontas a comer e de esfregaços em louças e utensílios (posteriormente analisados no laboratório).

Foram analisadas 105 refeições prontas a comer e 25 esfregaços, tendo sido calculado o número de unidades formadoras de colónias, por grama ou por mililitro de amostra de microrganismos aeróbios mesófilos, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, estafilococos coagulase positiva e fungos (bolores e leveduras). Foram ainda pesquisados os microrganismos *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

Verificou-se que 75,9% dos alimentos do grupo 1 revelou um nível de qualidade «Satisfatório», 22,2% «Aceitável» e 1,9% «Não Satisfatório». Dos alimentos do grupo 2, 4,9% revelou-se «Satisfatório», 48,8% «Aceitável» e 46,3% «Não Satisfatório». Dos alimentos do grupo 3, 20% revelou-se «Satisfatório», 20% «Aceitável» e 40% «Não Satisfatório». Relativamente aos esfregaços, 64% obtiveram resultado «Satisfatório» e 36% «Não satisfatório».

**Palavras-chave:** análise microbiológica, microrganismos, refeições prontas a comer.

## Abstract

This report refers to the training period carried out in the ambit of the 3rd year of the Biological and Nourishing Engineering Degree that elapsed in the Microbiology of Food Laboratory, of the Nourishment and Nutrition Department of the Nacional Institute of Health Dr. Ricardo Jorge. This traineeship, that lasted six months, began on the 1<sup>st</sup> September 2008 and finished on the 27<sup>th</sup> February 2009.

During this time, besides the laboratory daily work, several types of units of collective restoration have been visited and samples of ready meals and smears dishes and kitchenware were taken in (to be tested in the laboratory later).

It was analyzed 105 samples of meals and 25 smears, and the number of colonies creators units has been worked, per gram or mililitre of sample, the total aerobic microorganisms to 30°C, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulase positive* and fungus (moulds and leaven). *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* microrganisms have been researched.

It was been verified that 75,9% of group 1 food revealed a «Satisfatory» quality level, 22,2% «Acceptable» and 1,9% «Not Satisfatory». From the group 3 food, 4,9% revealed «Satisfatory», 48,8 % «Acceptable» and 46,3% «Not Satisfatory». From the group 3 food, 20% revealed «Satisfatory», 20% «Acceptable» and 40% «Not Satisfatory». Relating to smears 64% got «Satisfatory» and 36% «Not Satisfatory».

**Key words:** microbiological analysis, microorganisms, meals ready to eat.