

Avaliação do crescimento de coliformes fecais em placas CF secas compactas sob diferentes temperaturas
Ponte Laboratorio, Guayaquil
Agosto 2022

SÍNTESE

A fim de avaliar critérios microbiológicos baseados na qualidade de um produto, existem diferentes tipos de análises que permitem demonstrar as condições higiênico-sanitárias ao longo de um processo. Os coliformes fecais fazem parte de um grupo de espécies bacterianas às quais é atribuída uma contaminação pós processo térmico de um produto. Estes microrganismos são também chamados coliformes termotolerantes, o que se deve à sua capacidade de crescer a temperaturas de 44,5°C. Neste estudo, foi avaliada a capacidade das placas CF secas compactas para identificar coliformes fecais sob diferentes temperaturas de incubação, mostrando uma correlação $>0,9$ entre as duas condições.

PALAVRAS-CHAVE: Seco compacto, termotolerantes, coliformes fecais, temperatura de incubação.

INTRODUÇÃO

A qualidade de um produto está imersa tanto em factores microbiológicos como físico-químicos, onde são estabelecidos diferentes parâmetros de aceitação com base na natureza de um produto. Os coliformes fazem parte de um grupo de microrganismos indicadores, a sua presença nos alimentos é devida à contaminação após tratamento térmico. Estes microrganismos são saprófitos e/ou pertencem ao tracto intestinal, estima-se que estes organismos constituem aproximadamente 10% da flora intestinal dos seres humanos ou outros animais, e diferem dos outros coliformes pela sua capacidade de tolerar temperaturas de 44,5°C, razão pela qual também são chamados coliformes termotolerantes.

A presença de coliformes fecais pode ser determinada sob metodologias tradicionais nos meios de cultura, no entanto, existem metodologias alternativas que visam simplificar alguns processos dentro de um laboratório. As placas secas compactas são métodos alternativos que contêm meios de cultura desidratados, que mostram a presença de microrganismos alvo através de diferentes actividades enzimáticas. O Compact Dry CF é validado por diferentes organismos de certificação, que asseguram a utilização desta metodologia sob parâmetros previamente avaliados. Entidades como a AOAC, MicroVal e

NordVal nas suas validações aprovam a utilização de placas Compact Dry CF a uma temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas.

Estudos anteriores mostraram uma boa correlação de placas CF secas compactas incubadas abaixo de 45°C , mostrando um coeficiente de correlação $>0,9$ versus outras metodologias rápidas sobre matriz de carne. (Casarotti, Aline, & Daise, 2008). O objectivo deste estudo é avaliar o crescimento de coliformes fecais sob temperaturas de incubação de $44,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas e definir a sua reciprocidade em relação à temperatura de incubação da metodologia já validada.

MATERIAIS E MÉTODOS

- **Preparação de amostras**

Foi colhida uma amostra de leite em pó integral e pesada asepticamente 10g, que foi diluída em água peptona estéril numa porção de 1:10.

- **Preparação do inóculo**

Foi preparada uma balança McFarland utilizando uma estirpe de *Escherichia coli* ATCC 8739. Para tal, foi utilizada uma solução salina a 0,1%.

- **Preparação da porção de teste**

A amostra pré-pesada foi inoculada com uma concentração de 10^3 UFC. Isto foi inoculado com base na fórmula $C1.V1=C2.V2$

- **Contagem de coliformes fecais**

A porção de teste foi inoculada em 20 placas Compact Dry. 10 destas placas foram incubadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas e as outras foram incubadas a $44,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 horas.

RESULTADO

Depois de decorrido o tempo de incubação, foram efectuadas contagens bacterianas. Todas as colónias com coloração verde/azul foram tidas em conta. O resultado foi expresso em Log_{10} . Os resultados da contagem das placas são mostrados abaixo (ver quadro 1).

Quadro 1 Resultados da contagem bacteriana expressos em Log_{10} .

| Réplicas | 37°C ± 1°C (Log CFU/ml) | 44,5 ± 0,5°C (Log CFU/ml) |
|--------------|----------------------------|------------------------------|
| 1 | 1,61 | 1,66 |
| | 1,64 | 1,72 |
| | 1,63 | 1,67 |
| | 1,62 | 1,66 |
| 5 | 1,63 | 1,65 |
| | 1,61 | 1,63 |
| | 1,62 | 1,66 |
| 8 | 1,62 | 1,63 |
| | 1,61 | 1,66 |
| | 1,62 | 1,67 |
| Média | 1,621 | 1,661 |

Os resultados obtidos referem-se às duas variáveis de incubação, estas placas foram processadas sob as mesmas condições e incubadas durante 24 ± 2 horas.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

A fim de avaliar a relação das diferentes temperaturas sob uma variável dependente definida como concentração (Log_{10} CFU), foi avaliada a regressão linear do crescimento de coliformes fecais em placas Compact Dry (ver gráfico 1).

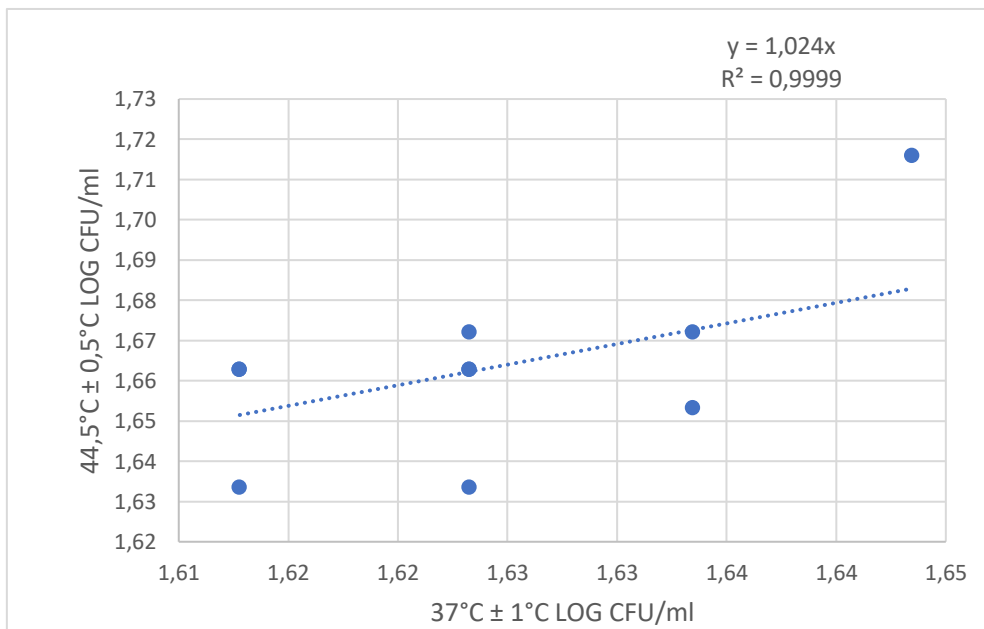


Gráfico 1 Regressão linear da contagem de coliformes fecais obtida em Compact Dry® CF sob incubação a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e $44,5^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ em 10 amostras de leite em pó integral.

De acordo com os resultados, é evidente uma forte correlação $>0,90$ das duas variáveis de temperatura, indicando que ambas as condições são metodologias equivalentes para a enumeração de coliformes fecais. Além disso, os valores dos valores de contagem emitidos mostram uma baixa variação uns dos outros com uma diferença logarítmica de 0,04 Log inferior a 0,5 Lof indicada na norma ISO 16140, o que indica que os factores de temperatura não afectam a recuperação da carga microbiológica.

CONCLUSÕES

De acordo com o estudo realizado nas instalações da Ponte Laboratorio, conclui-se que as placas CF secas compactas podem ser utilizadas para análise coliforme fecal sob temperaturas de incubação de $44,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, não mostrando nenhuma variável significativa que possa influenciar negativamente os resultados. Além disso, os resultados emitidos pelo estudo mostram uma forte correlação entre as duas condições com um coeficiente $>0,90$, estando de acordo com estudos anteriores registados por terceiros.

É evidente que as placas Compact Dry podem ser utilizadas para a detecção e contagem de coliformes fecais sob uma temperatura de incubação de $44,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, mostrando o crescimento de colónias com coloração azul/verde positiva para esta análise.

BIBLIOGRAFIA

- AOAC (2021). *Seco compacto CF. AOAC®Performance Tested Certificate No.110401. NISSUI Pharmaceutical Co., Ltd.*
- Casarotti, S., Aline, P., & Daise, R. (2008). *Correlação entre os métodos rápido e padrão de contagem de coliformes e Escherichia em carne picada bovina crua.* Uberlândia.
- MICROVAL. (2022). *COMPACT DRY CF para enumeração de Coliformes nos alimentos. N.º do certificado : 20081R03 .*
- NordVal (2020). *Certificado Internacional NordVal. NordVal no. 035. Método CF Seco Compacto para a Enumeração de Coliformes T*