



COINTER PDVAgro 2020

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 02 a 05 de dezembro

ISSN:2526-7701 | PREFIXO DOI:10.31692/2526-7701

MÉTODOS RÁPIDOS PARA DETECÇÃO DE *Escherichia coli* EM CARCAÇAS DE FRANGO: UM ESTUDO COMPARATIVO

MÉTODOS RÁPIDOS DE DETECCIÓN DE *Escherichia coli* EN CARCASAS DE POLLO: ESTUDIO COMPARATIVO

QUICK METHODS FOR DETECTION OF *Escherichia coli* IN CHICKEN CARCASSES: A COMPARATIVE STUDY

Apresentação: Pôster

Greici Bergamo¹; Ivair Gonçalves da Silva²; Siluana Katia Tischer Seraglio³; Fernanda Demoliner⁴; Nei Carlos Santin⁵

INTRODUÇÃO

Com a modernização dos equipamentos e das tecnologias empregadas na fabricação de produtos alimentícios, o tempo de processamento reduziu drasticamente e com isso, as análises que monitoram e que comprovam a qualidade do processo e dos produtos também devem estar compatíveis com essa demanda. Em virtude dessa constante necessidade de rapidez e praticidade nas análises microbiológicas, muitos métodos rápidos têm sido desenvolvidos e introduzidos nas rotinas de controle e qualidade das indústrias de alimentos (BERGAMO et al., 2018; HOSOKAWA; KODAKA, 2010).

Os métodos tradicionais de análises microbiológicas geralmente envolvem muitas etapas, tendem a ser demorados e acabam tornando-se incompatíveis com as demandas das indústrias de alimentos (BERGAMO et al., 2018; SANT'ANA; CONCEIÇÃO; AZEREDO, 2002; SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006). Dessa forma, muitos métodos alternativos vêm sendo validados por órgãos nacionais e internacionais como Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC e *Food and Drug Administration* – FDA, sendo inseridos nas rotinas de trabalho.

Por se tratar de uma bactéria que tem como habitat primário o intestino humano e de

¹Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade do Oeste de Santa Catarina, greici.bergamo@hotmail.com

²Tecnólogo de Alimentos, Universidade do Oeste de Santa Catarina, ivair32@hotmail.com

³Pós-Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, siluana.seraglio@hotmail.com

⁴Doutora em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, demoliner.fernanda@gmail.com

⁵Mestre em Ciência dos Alimentos, neicarlos@gmail.com

animais, a presença de *Escherichia coli* pode indicar contaminações de origem fecal em produtos alimentícios (KASNOWSKI et al., 2007; SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006). Além disso, por ser sensível a altas temperaturas e a ação de agentes sanitizantes comumente empregados nas etapas de sanitização, a presença dessa bactéria nos alimentos pode indicar falhas em processos térmicos, manipulação inadequada ou má higienização das superfícies, utensílios e equipamentos. Outra grande preocupação refere-se ao potencial patogênico de muitas das espécies do gênero *Escherichia coli* e, dessa forma, altas contagens desse microrganismo nos alimentos podem inviabilizar o seu consumo por representar um risco grave a saúde (KASNOWSKI et al., 2007).

O uso de métodos rápidos para a quantificação de microrganismos indicadores, como *Escherichia coli*, pode auxiliar a indústria alimentícia no controle da qualidade de seus processos e de seus produtos de forma adequada, rápida e confiável para liberação do produto dentro dos critérios determinados pela legislação. Um dos métodos rápidos utilizados para quantificação de *Escherichia coli* em alimentos é o Petrifilm® EC e Compact® Dry EC, cuja eficiência já foi equiparada à métodos tradicionais por meio de diversos trabalhos já publicados na literatura (CASAROTTI; PAULA; ROSSI, 2007; HOSOKAWA; KODAKA, 2010; PARK et al., 2001; RUSSELL, 2000; SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006).

Ainda, no que se refere a cadeia produtiva de frango e seus subprodutos, existe a constante preocupação com a condição microbiológica inicial das aves conduzidas para o abate, que normalmente são a fonte inicial de contaminação (CARDOSO et al., 2005; MENEZES et al., 2018; RODRIGUES et al., 2008). Nesses casos, o número de microrganismos presentes na carcaça pode ser influenciado pelas condições higiênicas de abate e processamento, e, dessa forma, é de fundamental importância que toda a etapa de produção seja monitorada por meio de análises microbiológicas rápidas e frequentes através de métodos confiáveis (MENEZES et al., 2018; RODRIGUES et al., 2008).

Diante disso, este estudo teve como objetivo comparar dois métodos rápidos para quantificação de *Escherichia coli*, sendo eles Petrifilm® EC e Compact Dry® EC em amostras de carcaça de frango.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Em virtude da crescente necessidade da indústria alimentícia na obtenção de resultados rápidos que demonstrem as reais condições higiênico-sanitárias dos ambientes produtivos e de seus produtos, é de fundamental importância avaliar a eficácia de métodos rápidos para análises microbiológicas disponíveis no mercado frente a microrganismos

indicadores. Ainda, considerando que as carcaças de frango são importantes carreadoras de *Escherichia coli*, um patógeno muito relacionado com intoxicações alimentares e indicador de falhas em processos, torna-se imprescindível a adoção de métodos rápidos e confiáveis de detecção desse microrganismo nesse produto.

METODOLOGIA

Para as análises de *Escherichia coli* foram coletadas 66 amostras de carcaça resfriada de frango. As análises foram realizadas de acordo com os procedimentos estabelecidos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000, 2004). De cada amostra foram colhidos assepticamente 25 g e a elas foi acrescentado 225 mL de água peptonada 0,1% estéril. Em seguida, procedeu-se a homogeneização por um minuto em *stomacher*. Este procedimento correspondeu a diluição 10^{-1} , ou seja, 10 g do homogeneizado contém um grama da amostra.

A partir da diluição inicial, procedeu-se a diluição 10^{-2} por meio da transferência de 1 mL da diluição inicial para 9,0 mL do diluente (água salina peptonada 1%) e a partir da diluição 10^{-2} , o mesmo procedimento foi utilizado para a obtenção da diluição 10^{-3} , última diluição testada.

Contagem de *Escherichia coli* em Petrifilm® EC

A análise foi realizada segundo a recomendação da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000). A lâmina superior do Petrifilm® EC foi levantada e, com cuidado, foi depositado 1 mL da amostra das respectivas diluições selecionadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) no centro da lâmina inferior. A lâmina superior foi baixada lentamente, evitando que bolhas de ar fossem introduzidas. Logo após o procedimento, as placas de Petrifilm® EC foram incubadas horizontalmente, sem inversão, a 36 ± 1 °C por 24 ± 2 horas.

Foram consideradas colônias características de *Escherichia coli* as colônias azuis com e sem produção de gás. O somatório das colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e expresso como unidades formadoras de colônias (UFC) g^{-1} de *Escherichia coli*.

Contagem de *Escherichia coli* em Compact Dry® EC

A análise foi realizada conforme descrito pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2004). Após a abertura das placas de Compact Dry® EC, 1 mL de cada uma das diluições selecionadas (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), foi adicionada sobre o filme. Após a inoculação das placas, as mesmas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 24 ± 2 horas.

Foram observadas e contadas nas placas as colônias de coloração azul. O somatório dessas colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e o resultado expresso como UFC g⁻¹ de *Escherichia coli*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 01 estão apresentados os resultados obtidos nas análises para quantificação de *Escherichia coli* por meio dos métodos Petrifilm® EC e Compact Dry® EC em amostras de carcaça de frango resfriada.

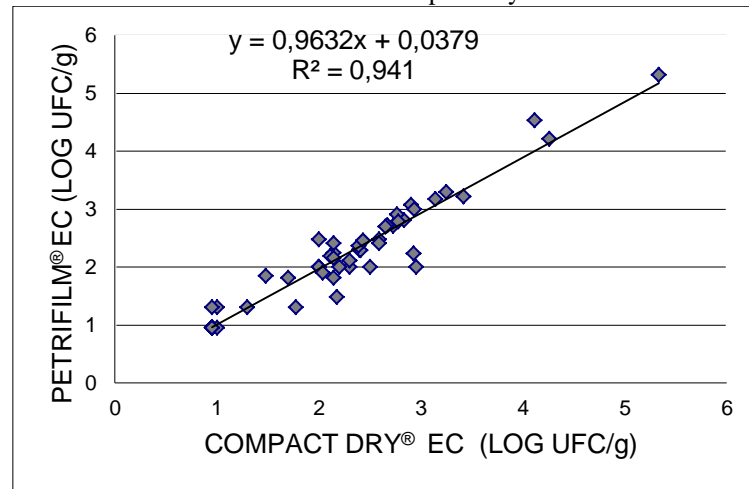
Tabela 01: Quantificação de *Escherichia coli* por meio dos métodos Petrifilm® EC e Compact Dry® EC em amostras de carcaça de frango resfriada.

Amostra	Petrifilm® EC	Compact Dry® EC	Amostra	Petrifilm® EC	Compact Dry® EC	Amostra	Petrifilm® EC	Compact Dry® EC
1	34,0 x 10 ³	13,0 x 10 ³	23	1,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	45	28,5 x 10 ¹	27,0 x 10 ¹
2	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	24	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	46	8,0 x 10 ¹	11,0 x 10 ¹
3	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	25	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	47	1,7 x 10 ²	8,5 x 10 ²
4	15,0 x 10 ²	14,0 x 10 ²	26	10,0 x 10 ²	10,0 x 10 ²	48	23,5 x 10 ¹	24,5 x 10 ¹
5	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	27	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	49	17,5 x 10 ¹	14,0 x 10 ¹
6	1,0 x 10 ²	2,0 x 10 ²	28	10,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²	50	6,5 x 10 ¹	5,0 x 10 ¹
7	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	29	30,0 x 10 ¹	39,0 x 10 ¹	51	15,5 x 10 ¹	13,0 x 10 ¹
8	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	30	5,1 x 10 ²	5,3 x 10 ²	52	1,0 x 10 ²	1,6 x 10 ²
9	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	31	1,0 x 10 ²	3,2 x 10 ²	53	3,0 x 10 ²	1,0 x 10 ²
10	16,5 x 10 ³	18,2 x 10 ³	32	2,0 x 10 ²	2,5 x 10 ²	54	2,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ¹
11	1,0 x 10 ²	9,0 x 10 ²	33	19,5 x 10 ¹	25,5 x 10 ¹	55	8,0 x 10 ²	5,85 x 10 ²
12	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	34	13,0 x 10 ¹	20,0 x 10 ¹	56	2,6 x 10 ²	1,4 x 10 ²
13	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	35	64,5 x 10 ¹	68,5 x 10 ¹	57	1,2 x 10 ³	8,0 x 10 ²
14	21,0 x 10 ⁴	21,6 x 10 ⁴	36	16,3 x 10 ²	26,2 x 10 ²	58	2,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
15	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	37	5,2 x 10 ²	4,7 x 10 ²	59	2,0 x 10 ¹	2,0 x 10 ¹
16	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	38	2,0 x 10 ¹	6,0 x 10 ¹	60	28,5 x 10 ¹	27,0 x 10 ¹
17	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	39	25,5 x 10 ¹	39,0 x 10 ¹	61	6,1 x 10 ²	6,0 x 10 ²
18	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	40	6,5 x 10 ²	1,4 x 10 ²	62	14,5 x 10 ¹	14,0 x 10 ¹
19	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	41	< 1,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ¹	63	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
20	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	42	19,8 x 10 ²	17,7 x 10 ²	64	1,0 x 10 ³	8,6 x 10 ²
21	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	43	7,0 x 10 ¹	3,0 x 10 ¹	65	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
22	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹	44	3,0 x 10 ¹	15,0 x 10 ¹	66	5,0 x 10 ²	4,5 x 10 ²

Fonte: Própria (2019).

As contagens de *Escherichia coli* variaram de < 1,0 x 10¹ UFC g⁻¹ à 21,0 x 10⁴ para o método Petrifilm® EC e de < 1,0 x 10¹ UFC g⁻¹ à 21,6 x 10⁴ Compact Dry® (Tabela 01). A partir dos resultados apresentadas na Tabela 01, os dados foram transformados em logaritmo de base 10 (log₁₀) e a seguir foi realizada a análise de regressão linear e cálculo do coeficiente de correlação (R²) para a comparação dos resultados obtidos nos dois métodos rápidos avaliados (Figura 01).

Figura 01: Regressão linear dos dados obtidos nas análises de *Escherichia coli* por meio dos métodos Petrifilm® EC e Compact Dry® EC



Fonte: Própria (2019).

O coeficiente de 0,941 demonstra boa correlação entre os dois métodos avaliados indicando que os métodos avaliados são compatíveis para quantificação de *Escherichia coli* em carcaças de frango. Esses resultados são compatíveis com os achados de Casarotti et al. (2007) que comparou os métodos Petrifilm® EC e Compact Dry® EC para pesquisa de *Escherichia coli* em amostras de carne bovina moída.

As principais vantagens na utilização de métodos rápidos em relação aos convencionais referem-se principalmente a sua praticidade pois não necessitam de grandes preparos de meios de cultura, reagentes e vidrarias; são compactos e com isso ocupam menos espaço e geralmente desprendem menor tempo de análise (BERGAMO et al., 2018; SANT'ANA; CONCEIÇÃO; AZEREDO, 2002; SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006).

Com base nos resultados apresentados, é possível afirmar que ambos os métodos avaliados podem ser utilizados com alternativas viáveis para quantificação de *Escherichia coli* em carcaças de frango. Esse estudo trata-se de uma pesquisa preliminar e as próximas etapas consistem na comparação de métodos rápidos e métodos tradicionais para quantificação de *Escherichia coli* em carcaças de frango e nos ambientes de produção.

CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho demonstram que os métodos Petrifilm® EC e Compact Dry® EC apresentaram boa correlação podendo ser utilizados como uma alternativa viável para a quantificação de *Escherichia coli* em amostras de carcaça de frango. Portanto, esses resultados impulsionam futuros estudos visando a comparação destes com métodos tradicionais e ampliando a sua aplicação para mais etapas do processamento.

REFERÊNCIAS

AOAC. Método 991.14. **In Official methods of analysis to AOAC International**, 2000.

AOAC. Método 110402. **In Official methods of analysis to AOAC International**, 2004.

BERGAMO, G. et al. Comparison between the 3M MDS® method and phenotypic methods to detect *Salmonella* spp. in foods. **LWT**, v. 97, p. 693–696, 1 nov. 2018.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 144–150, 2005.

CASAROTTI, S. N.; PAULA, A. T.; ROSSI, D. A. Correlação entre métodos cromogênicos e o método convencional na enumeração de coliformes e *Escherichia coli* em carne bovina moída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 3, p. 278–286, 2 jan. 2007.

HOSOKAWA, S.; KODAKA, H. **Efficacy of Compact Dry EC for Coliform Detection in Seafood** *Japanese Journal of Food Microbiology*. Disponível em: <<http://www.fda.gov/>>. Acesso em: 12 out. 2020.

KASNOWSKI, M. C. et al. *Escherichia coli*: uma revisão bibliográfica. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 154, p. 44–48, set. 2007.

MENEZES, L. D. M. et al. Caracterização microbiológica de carcaças de frangos de corte produzidas no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 2, p. 623–627, ago. 2018.

PARK, Y. H. et al. Evaluation of the petrifilm plate method for the enumeration of aerobic microorganisms and coliforms in retailed meat samples. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 11, p. 1841–1843, 2001.

RODRIGUES, A. C. A. et al. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciencia Rural**, v. 38, n. 7, p. 1948–1953, out. 2008.

RUSSELL, S. M. Comparison of the traditional three-tube most probable number method with the Petrifilm, SimPlate, BioSys optical, and Bactometer conductance methods for enumerating *Escherichia coli* from chicken carcasses and ground beef. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 9, p. 1179–1183, 2000.

SANT'ANA, A. DE S.; CONCEIÇÃO, C. DA; AZEREDO, D. R. P. Comparação Entre Os Métodos Rápidos Simplate R Tpc- Ci E Petrifilm R Ac E Os Métodos Convencionais De Contagem. **Food Science and Technology**, v. 22, n. 1, p. 60–64, 2002.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352–359, 2006.