

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango

Luquécia Costa Vilaça¹, Eliane Pereira Mendonça^{1,2}, Letícia Rísoli Coelho^{1,2},
Roberta Torres de Melo^{1,2}, Priscila Christen Nalevaiko¹, Guilherme Paz
Monteiro¹, Daise Aparecida Rossi^{1,2}

¹Laboratório de Biotecnologia Animal e Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia, Brasil (LABIO – UFU)

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.

Resumo

A enumeração de bactérias mesófilas é amplamente utilizada para avaliação da qualidade de alimentos, processos de limpeza e eficiência de tratamentos térmicos. Objetivou-se com esse estudo avaliar a equivalência dos métodos alternativos Compact Dry® e Petrifilm® com o método de referência tradicional de contagem em placas. Foram analisadas 18 amostras de peito de frango pelas três metodologias e os resultados avaliados pela correlação de Pearson. As metodologias alternativas foram realizadas conforme especificações do fabricante. O coeficiente de correlação determinado entre o método tradicional de análise e o Petrifilm® foi de 0,9178, entre o método tradicional e Compact Dry® foi 0,9316 e entre o Compact Dry® e Petrifilm®

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

foi de 0,9235. Os resultados obtidos neste estudo indicam que os métodos alternativos Compact Dry® e Petrifilm® são equivalentes ao método tradicional de análise para contagem de bactérias mesófilas.

Palavras-chave: Bactérias mesófilas; Método tradicional; Compact Dry®; Petrifilm®.

Abstract

The enumeration of mesophilic bacteria is widely used to evaluate the quality of food, cleaning processes and efficiency of heat treatments. The objective of this study was evaluating the equivalence of alternative methods Petrifilm® and Compact Dry® with the reference method traditional plate count. Were analyzed 18 samples of chicken breast by the three methods and the results were evaluated by Pearson correlation. The alternative methods were done according to manufacturer's specifications. The correlation coefficient determined between the traditional method of analysis and Petrifilm® was 0.9178, between the traditional and Compact Dry® was 0.9316 and between the Compact Dry® and Petrifilm® was 0.9235. The results of this study indicate that alternative methods Compact Dry® and Petrifilm® are equivalent to the traditional method of analysis for mesophilic bacteria.

Keywords: Mesophilic bacteria; Traditional method; Compact Dry®; Petrifilm®.

1. Introdução

Os alimentos de origem animal, especificamente a carne, pela sua composição rica em nutrientes e sua elevada atividade de água é bastante susceptível à deterioração microbiana. É um excelente meio de cultura para o desenvolvimento de microrganismos e frequentemente está envolvida na

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

disseminação de patógenos causadores de enfermidades ao homem e a outros animais (BRASIL, 1997).

Além das características intrínsecas do alimento, a contaminação inicial aliada à temperatura de conservação é um fator que está associado diretamente à velocidade das reações químicas dos microrganismos. Isso se deve ao fato de que tais reações são catalisadas por enzimas específicas, que tem a sua atividade aumentada ou diminuída de acordo com a temperatura (CHESCA et al., 2001).

A pesquisa de bactérias bioindicadoras auxilia a verificação da qualidade dos alimentos e é adequada para monitoramento de instalações ou processos de higienização (HOFFMAN et al., 1995). As bactérias mesófilas correspondem à grande maioria da microbiota de importância em alimentos e a contagem destes microrganismos é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos não fermentados (SILVA et al., 2007).

Microrganismos aeróbios mesófilos são aqueles que crescem em temperaturas entre 50°C e 45°C, sendo a temperatura ideal de crescimento em torno de 30°C-37°C (MOSSEL e MORENO, 1982). A contagem destas bactérias tem sido usada como indicadora da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também informações sobre seu tempo útil de conservação. Em casos onde a contagem é elevada em alimentos não perecíveis, indica que a matéria-prima foi contaminada ou seu processamento foi inadequado. Já em casos de alimentos perecíveis, é indicativo de abuso do binômio Tempo x Temperatura, durante o armazenamento deste produto (ORDOÑEZ et al., 2005).

Vários métodos são aprovados por órgãos oficiais nacionais e internacionais para enumeração de bactérias mesófilas, sendo o mais difundido o método tradicional de cultura em ágar padrão 35°C±2°C por 48 horas (BRASIL, 2003). Este método é considerado o padrão ouro para comparação com metodologias alternativas e é o método convencional mais

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

utilizado para enumeração de bactérias em função da facilidade de cultivo, precisão e versatilidade (BARANCELLI et al., 2004).

Atualmente, métodos alternativos como Petrifilm® e Compact Dry® prontos para o uso têm sido introduzidos nas indústrias de alimentos. Com isso, objetivou-se avaliar e correlacionar as contagens de bactérias heterotróficas mesófilas pelo método cultivo tradicional em ágar padrão e os métodos alternativos utilizados nas indústrias de alimentos.

2. Metodologia

Para o estudo foram utilizadas 18 amostras de peito de frango provenientes do comércio local da cidade de Uberlândia, MG. Para transporte ao laboratório, as amostras foram devidamente acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e, após imediatamente analisadas.

2.1. Preparo das amostras

No laboratório, as embalagens foram higienizadas externamente com água e sabão, secas com papel descartável e sanitizadas com álcool etílico 70%. Foram pesadas assepticamente 25g de cada amostra em saco estéril e adicionadas de 225mL de água peptonada 0,1% (APT) e devidamente homogeneizadas. Essa foi considerada a diluição 10^{-1} e a partir dela foram realizadas diluições seriadas decimais em APT.

Cada uma das diluições selecionadas para a análise (mínimo de três) foi cultivada paralelamente nos três métodos de análise: tradicional em placas, Petrifilm® e Compact Dry®.

2.2. Contagem padrão em placas

O protocolo de análise foi realizado de acordo com o protocolo de análise preconizado pela Portaria 62 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2003). De cada uma das diluições selecionadas foi depositada 1mL na

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

superfície de uma placa de Petri estéril e depois adicionado cerca de 15mL de ágar padrão para mesófilas (PCA) pré fundido e resfriado a 45°C. Após homogeneização em movimentos circulares, as placas foram deixadas em superfície plana para solidificação e depois incubadas a 35°C±2°C por 48 horas.

A contagem foi realizada em contador de colônias tipo Quebec e os resultados expressos como UFC.g⁻¹ de bactérias mesófilas após multiplicação pela recíproca da diluição utilizada.

2.3. Utilização dos métodos Petrifilm® e Compact Dry®

As análises foram realizadas de acordo com as recomendações dos fabricantes de cada método. As diluições selecionadas (1mL) foram depositadas nas placas de Compact Dry® e incubadas em posição invertida. A inoculação foi realizada da mesma forma no Petrifilm®, com o devido cuidado de evitar a entrada de bolhas de ar na placa. Após a retirada do difusor e solidificação do meio de cultura, o Petrifilm® foi incubado com a face transparente para cima. A incubação foi realizada na temperatura de 35°C ±1°C por 48±2 horas para ambos os métodos.

As colônias foram contadas e multiplicadas pela recíproca da diluição, sendo registrados como UFC.g⁻¹ de bactérias mesófilas.

2.4. Análise dos resultados

Os resultados foram tabulados e dispostos em tabelas. Para analisar os resultados obtidos nos diferentes testes, as contagens foram transformadas em log de UFCg⁻¹ e avaliadas utilizando o método de correlação de Pearson (FONSECA, MARTINS, 1993).

3. Resultados e Discussão

A análise de bactérias mesófilas é amplamente utilizada como indicadora das condições da higienização, da qualidade de matérias primas, na verificação da eficiência de tratamentos térmicos e para monitorar processos de limpeza. Os resultados obtidos na contagem de bactérias mesófilas pelos três diferentes métodos estão ilustrados na Tabela 1. Como esperado, os três métodos apresentaram a mesma tendência.

Apesar de não haver padrão específico para contagem de bactérias mesófilas em peito de frango, provavelmente, estes resultados se transportados para uma matriz em que essa contagem fosse utilizada para condenar/liberar lotes, a decisão seria a mesma, não havendo prejuízo ao controle de qualidade.

O coeficiente de correlação determinado entre o método tradicional de análise e o Petrifilm® foi de 0,9178 (Figura 1), entre o método tradicional e Compact Dry® foi 0,9316 (Figura 2) e entre o Compact Dry® e Petrifilm® foi de 0,9235.

Tabela 1. Contagem de bactérias heterotróficas mesófilas (UFC.g⁻¹ e log UFC.g⁻¹) realizadas em 18 amostras de peito de frango por três diferentes métodos de análise.

Amostra	Tradicional		Petrifilm®		Compact Dry®	
	UFC.g ⁻¹	log UFC.g ⁻¹	UFC.g ⁻¹	log UFC.g ⁻¹	UFC.g ⁻¹	log UFC.g ⁻¹
1	2400	3,38	9000	3,95	5000	3,69
2	250000	5,39	250000	5,39	250000	5,39
3	16000	4,20	41000	4,61	12000	4,07
4	15700	4,19	15400	4,18	10900	4,03
5	23000	4,36	25000	4,39	26000	4,41
6	2000	3,3	4000	3,6	1000	3,0
7	5800	3,76	8200	3,91	4700	3,67
8	116000	5,06	141000	5,14	138000	5,13
9	165000	5,21	120000	5,07	142000	5,15
10	139000	5,14	183000	5,26	91000	4,95
11	42000	4,62	66000	4,81	78000	4,89
12	18000	4,25	41000	4,61	29000	4,46
13	100000	5,00	140000	5,14	63000	4,79
14	5500	3,74	13000	4,11	9000	3,95
15	24000	3,38	49000	4,69	30000	4,47
16	16000	4,20	35000	4,54	20000	4,30
17	15000	4,18	16000	4,20	12000	4,08
18	2000	3,3	2000	3,3	2000	3,3

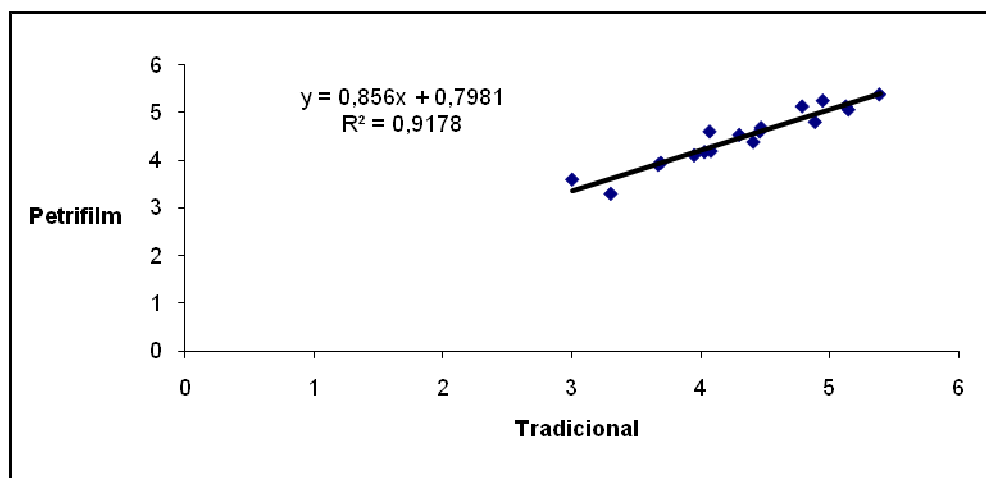


Figura 1. Coeficiente de correlação e equação da reta entre resultados (log UFC.g⁻¹) de bactérias heterotróficas mesófilas obtidos pelo método tradicional da análise e Petrifilm®.

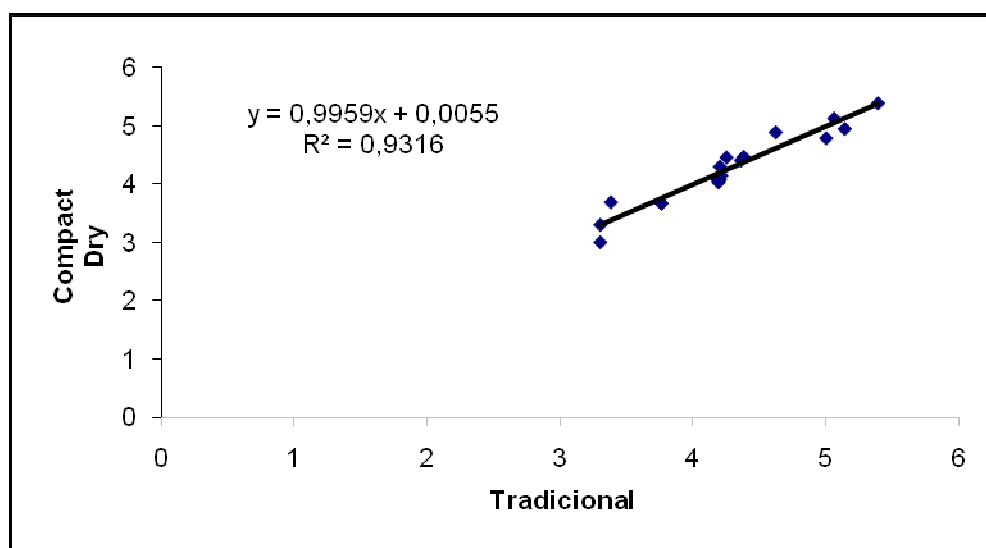


Figura 2. Coeficiente de correlação e equação da reta entre resultados (log UFC.g⁻¹) de bactérias heterotróficas mesófilas obtidos pelo método tradicional de análise e Compact Dry®.

As correlações obtidas neste estudo foram ligeiramente inferiores às encontradas por Mizuochi et al. (1999), que obtiveram um coeficiente de

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

correlação de 0,97 quando compararam o Compact Dry® com o método tradicional e 0,95 quando a comparação foi realizada com o Petrifilm®.

Quando amostras de alimentos são analisadas pelo método de cultura tradicional, que é o método de referência, etapas de preparo de meio de cultura, lavagem e esterilização das vidrarias e outros materiais, se não realizadas adequadamente, podem comprometer os resultados obtidos. Métodos alternativos de análise diminuem a manipulação, erros operacionais por fadiga e tem sido introduzido em laboratórios de controle em todo o mundo (AYCICEK et al., 2006).

Os resultados obtidos neste estudo, com coeficientes de correlação superiores a 0,90 para todas as comparações realizadas, indicam que os métodos testados são equivalentes e podem ser utilizados na rotina das indústrias.

4. Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que os métodos alternativos Compact Dry® e Petrifilm® são equivalentes ao método tradicional de análise para contagem de bactérias mesófilas. A correlação superior a 0,90 indica que os métodos alternativos testados podem ser utilizados nas indústrias de alimentos sem prejuízo dos resultados obtidos.

5. Referências bibliográficas

AYCICEK, H.; OGUZ, U.; KARCI, K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankar, Turkey. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v.209, p.197-201, 2006.

BARANCELLI, G.V.; SARKIS, F.; GALLO, C.R.; OLIVEIRA, A. J. Avaliação de métodos para enumeração de microrganismos aeróbios mesófilos e coliformes em leite cru. **Revista Higiene Alimentar**, v.18, n.120, p. 70-84, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa DAS n.62 de 26/08/ 2003. **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**, 2003.

VILAÇA, L.C. et al. Comparação de diferentes métodos para quantificação de bactérias heterotróficas mesófilas em cortes de frango. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 36, Ed. 141, Art. 955, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº368, de 04/09/1997. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/ industrializadores de alimentos**. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 1997. p.60.

CHESCA, A. C.; CAETANO, A. M.; LEITE, A. P. C.; POLVEIRO, A. M.; TERRA, A. D.; LYRA, F. S.; ZAIDAN, M. C. C.; OKURA, M. H. Avaliação das temperaturas de pistas frias e pistas quentes em restaurantes da cidade de Uberaba, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 87, p. 38 - 43, 2001.

FONSECA, J. S.; MARTINS, G. A. **Curso de Estatística**, Ed. Atlas, São Paulo, 4a ed., cap.2, p.37-59, cap 8, p.184-193, 1993.

HOFFMAN, F. L.; CRUZ, C.H.G.; VINTURIM, T.M. Estudo higiênico-sanitário de frangos comercializados na cidade de São José do Rio Preto - SP. **Higiene Alimentar**, v.9, n.35, 1995.

MIZUOCHI, S.; KAMIYA, H.; KODAKA, H.; SENGOKU, H.; HORIGOME, K.
Compact dry for the enumeration of bacteria in food. **General Meeting**, p.30-31, 1999.

MOSSEL, D.A.A.; MORENO, B.G. **Microbiologia de los alimentos: fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos**. Zaragoza-España: Acribia S.A. 1982. p.04.

ORDOÑEZ, J. A. et. al. **Tecnologia dos alimentos** – Vol. 2, Porto Alegre: Artmed, 2005, 280p.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552p.