

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CORRELAÇÃO DE MÉTODOS CROMOGÊNICOS E O MÉTODO TRADICIONAL PARA A
ENUMERAÇÃO DE BIOINDICADORES EM CARNE BOVINA MOÍDA**

Sabrina Neves Casarotti

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Fevereiro – 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CORRELAÇÃO DE MÉTODOS CROMOGÊNICOS E O MÉTODO TRADICIONAL
PARA A ENUMERAÇÃO DE BIOINDICADORES EM CARNE BOVINA MOÍDA**

Sabrina Neves Casarotti

Dra. Daise Aparecida Rossi
Orientador (a)

Monografia apresentada ao Curso de
Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Fevereiro – 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**CORRELAÇÃO DE MÉTODOS CROMOGÊNICOS E O MÉTODO TRADICIONAL
PARA A ENUMERAÇÃO DE BIOINDICADORES EM CARNE BOVINA MOÍDA**

Sabrina Neves Casarotti

Orientador (a): Dra. Daise Aparecida Rossi
Faculdade de Medicina Veterinária

Homologado pela Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas em

 / /

Coordenador (a) do Curso de Ciências Biológicas

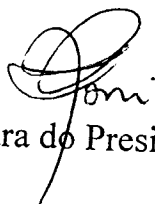
Uberlândia – MG
Fevereiro – 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CORRELAÇÃO DE MÉTODOS CROMOGÊNICOS E O MÉTODO TRADICIONAL PARA A
ENUMERAÇÃO DE BIOINDICADORES EM CARNE BOVINA MOÍDA

Sabrina Neves Casarotti

Aprovado pela Banca Examinadora em: 13/02/07 Nota: 10,0



Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora



Nome e assinatura do 2º membro da Banca Examinadora



Nome e assinatura do 3º membro da Banca Examinadora

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2007

**Aos meus pais pelo amor,
carinho, apoio e compreensão
durante todos esses anos.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me permitido completar mais essa etapa da minha vida.

Aos meus pais e à minha irmã, que me apoiaram em todos os momentos e me deram os estímulos necessários para seguir em frente.

Ao meu namorado, que esteve sempre ao meu lado.

À professora Daise, por ter aceitado me orientar e pelos ensinamentos.

Aos amigos do LABIO, que me ajudaram na realização deste trabalho, em especial, Aline Teodoro, Aline Zago, Francesca, Héberly, Liliane e max.

RESUMO

A necessidade de oferecer ao consumidor um alimento que não traga riscos à saúde aumenta o número de análises microbiológicas necessárias para o monitoramento da produção. Dessa forma, métodos alternativos que contribuam com a diminuição de procedimentos e ofereçam resultados rápidos são desejáveis. O objetivo desse estudo foi correlacionar o método de análise tradicional em placas com os métodos alternativos Petrifilm e Compact Dry na enumeração de coliformes totais e termotolerantes em amostras de carne moída bovina. As metodologias alternativas foram comparadas para a enumeração de *Escherichia coli*. Os resultados obtidos das correlações para coliformes totais e termotolerantes foram considerados satisfatórios, assim como o coeficiente de correlação entre o Compact Dry EC e o Petrifilm para enumeração de *E. coli*. Porém, quando os resultados da enumeração de *E. coli* das diferentes temperaturas de incubação de cada método foram comparados, os coeficientes encontrados foram inferiores. Considerando-se que as metodologias alternativas e a tradicional para contagem de coliformes mostraram-se equivalentes, pode-se sugerir a substituição dos métodos convencionais pelos sistemas Petrifilm e Compact Dry.

Palavras-chave: coliformes, métodos rápidos, método tradicional.

baseados no uso de enzimas cromogênicas que mudam de cor quando determinada atividade enzimática intrínseca destes microrganismos é desenvolvida (SILVA et. al, 1996).

No sistema Petrifilm para coliformes totais e *E. coli*, o meio de cultivo contém um meio nutritivo com os mesmos constituintes do VRBA e um indicador de atividade glucoronidásica, o 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-glucoronídeo. As colônias de coliformes apresentam-se vermelhas associadas a bolhas de gás devido à fermentação da lactose. De acordo com instruções do fabricante, colônias sem gás não devem ser consideradas como sendo coliformes. A *E. coli* produz a enzima glucoronidase que reage com o corante indicador glucoronidásico formando um precipitado azul em volta da colônia, além da formação de gás, o que permite sua identificação visual (KINNEBER; LINDBERG, 2002).

O Compact Dry EC contém inibidores para bactérias Gram positivas e nutrientes necessários para o rápido crescimento dos coliformes. O meio contém enzimas cromogênicas capazes de detectar atividades de beta-galactosidase (β -Gal) e beta-glucoronidase (X-Gal), características do grupo coliforme e de *E. coli*, respectivamente. Neste método os coliformes formam colônias róseas a vermelhas e a *E. coli* produz colônias azuis a azuis roxeadas. Alternativamente, pode ser utilizado o Compact dry CF que é exclusivo para coliformes totais. Este meio possui um indicador para produção de beta-galactosidase que deixam as colônias de coliformes com coloração azul ou azul esverdeada e os resultados podem ser obtidos em apenas 18 horas (KODAKA et al., 2006).

Para que sejam inseridos como rotina e não representem prejuízos na qualidade dos resultados produzidos, os novos métodos devem ser submetidos e aprovados por órgãos internacionais de certificação como a A.O.A.C. (Association Official Analytical Chemists) (KODAKA et al., 2006). Para o uso no Brasil em análises de produtos de origem animal, os métodos necessitam ainda, da aprovação do Ministério da Agricultura. A Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 regulamenta sobre as técnicas de análise que devem ser utilizadas nas indústrias que produzem alimentos de origem animal (BRASIL, 2003).

Resultados de validações internacionais e nacionais de métodos de análise devem ser interpretados com cuidado, pois eles não levam em consideração variações regionais da microbiota dos alimentos (TAVOLARO et al., 2005). Dessa forma, testes internos por comparação com os métodos tradicionais de análise devem ser realizados, já que muitas vezes, a matriz alimentar (características intrínsecas) podem interferir nos resultados.

Desta forma, considerando a importância de utilização de métodos rápidos para quantificação de bactérias do grupo coliforme, o presente trabalho possuiu como objetivos avaliar e correlacionar os métodos de análise tradicional em placas com os métodos alternativos Petrifilm e Compact Dry na enumeração de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* em carne bovina.

1. MATERIAL E MÉTODOS

1.1. Coleta das amostras

As análises comparativas foram realizadas em 20 amostras de carne moída adquiridas em açougues da cidade de Uberlândia, durante o mês de outubro de 2006. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa de isopor contendo gelo e transportadas imediatamente para o Laboratório de Biotecnologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (LABIO/FAMEV/UFU), onde foram analisadas.

1.2. Preparo das amostras

No laboratório, as amostras receberam um número de identificação e a embalagem foi sanitizada externamente com álcool etílico 70% e levadas para fluxo laminar onde foram abertas assepticamente. Pesou-se 25g da amostra em um frasco contendo 225mL da água peptonada 0,1% estéril (AP), e esta, foi considerada a diluição 10^{-1} . O conteúdo do frasco foi homogeneizado e ficou em repouso por 5 minutos e, a partir desta, preparou-se diluições decimais seriadas em 9mL de AP.

1.3. Contagem de coliformes totais e fecais pelo método tradicional

Foi utilizada a contagem em placas com posterior confirmação, que é a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura na Instrução Normativa 62 para amostras em que o limite máximo tolerado é igual ou superior a 100 UFC/g ou mL (BRASIL, 2003).

Foram inoculadas 1mL de cada diluição selecionada em uma placa de Petri estéril e, em seguida, adicionado o ágar cristal violeta vermelho bile (VRBA). Após homogeneização, as placas foram deixadas em superfície plana para completa solidificação e após, adicionado uma sobrecamada para a prevenção do crescimento e do espairamento de colônias na superfície do ágar. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas.

Para a leitura foram selecionadas as placas que continham entre 25 e 250 colônias que apresentavam morfologia típica de coliformes, ou seja, colônias róseas, com 0,5mm a 2 mm

de diâmetro rodeadas ou não por uma zona de precipitação da bile presente no meio. Três a cinco colônias foram selecionadas para confirmação.

A presença de coliformes totais foi confirmada pela inoculação das colônias suspeitas em caldo verde brilhante bile 2% lactose e posterior incubação a 35°C. Foram considerados positivos os tubos que apresentavam gás nos tubos de Durham após 48 horas de incubação. Para confirmar a presença de coliformes fecais as colônias suspeitas foram inoculadas em caldo EC e incubadas a 45°C por 48 horas. Os tubos que apresentavam gás nos tubos de Durham após 48 horas de incubação foram considerados positivos.

O resultado em UFC/g foi obtido pela fórmula:

$$R = \frac{C \times c \times d}{r}; \text{ onde:}$$

R = UFC/g; C = número de colônias contadas; c = número de colônias confirmadas; d = diluição utilizada e r = número de colônias repicadas.

2.4.Contagem de coliformes totais e termotolerantes em Petrifilm

Placas de Petrifilm KC foram inoculadas com 1mL das diluições selecionadas, no centro do filme inferior. O filme superior foi abaixado evitando a entrada de bolhas de ar. Em seguida, utilizou-se o difusor sobre o filme superior, pressionando com cuidado de forma a distribuir o inóculo uniformemente pela área circular. O Petrifilm foi deixado em superfície plana para que ocorresse geleificação do meio de cultura. Uma placa foi incubada a 35°C por 48 horas, para detecção de coliformes totais e a outra, a 45°C por 48 horas, para enumeração de coliformes fecais.

A presença de coliformes foi determinada pela produção de colônias vermelhas associadas às bolhas de gás. A presença de *Escherichia coli* foi confirmada pela produção de um precipitado azul em torno da colônia associada à bolha de gás. O resultado foi expresso como UFC/g de *E. coli*. As colônias vermelhas e azuis com bolhas foram somadas e multiplicou-se o resultado pela recíproca da diluição utilizada. O resultado foi expresso como UFC/ g de coliformes totais, para as placas incubadas a 35°C, ou como UFC/g de coliformes termotolerantes, para as placas incubadas a 45°C.

2.5. Contagem de coliformes totais e termotolerantes em Compact Dry EC e CF

As placas de Compact Dry EC e Compact Dry CF foram inoculadas com 1mL das diluições selecionadas. Uma das placas de EC e uma de CF foram incubadas a 35°C por 24 horas. A outra placa de EC e a outra de CF foram incubadas a 45°C por 24 horas.

Foram contadas nas placas de EC, incubadas a 35°C, as colônias azuis. Após a multiplicação pela recíproca da diluição utilizada, o resultado foi expresso como UFC/g de *E. coli*. As colônias vermelhas ou cor-de-rosa foram somadas às colônias azuis e foi feita a multiplicação pela recíproca da diluição utilizada. O resultado foi expresso como UFC/g de coliformes totais. A contagem nas placas incubadas a 45°C foi feita da mesma forma, porém, a soma das colônias vermelhas e azuis foi expressa como UFC/g de coliformes fecais.

Nas placas CF incubadas a 35°C e 45°C foram contadas as colônias azuis ou verdes. O total de colônias foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada e o resultado foi expresso como UFC/g de coliformes totais ou termotolerantes, respectivamente.

2.6. Análise dos resultados

Os diferentes resultados das contagens foram tabulados e transformados em logaritmo de base 10 ($\log_{10}$). Utilizou-se análise de regressão linear e cálculo do coeficiente de correlação (R^2) para a comparação dos resultados obtidos nos diferentes métodos.

Na análise estatística foram utilizados os critérios tradicionais de equivalência entre dois métodos que são: coeficiente angular próximo de 1,0, coeficiente linear próximo de 0,0 e coeficiente de correlação $>0,9$ (FONSECA; MARINS, 1993).

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em alimentos, a ocorrência de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação microbiana devido às condições de armazenamento e estocagem (SILVA; SOUSA, 2004). A presença de coliformes fecais e, principalmente, *E. coli* evidencia informações sobre as condições higiênico-sanitárias e melhor indicação da presença de enteropatógenos em ambientes ou produtos alimentícios (TRABULSI et al., 1999).

A RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) nº12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, não estabelece padrões microbiológicos para coliformes totais em carne bovina moída (ANVISA, 2001). No entanto entre as amostras analisadas, 90% (18/20) apresentaram contaminação pelos coliformes totais, em diferentes níveis, indicando falhas higiênicas no processamento da matéria-prima. As contagens nestas amostras variaram de 10^2 a 10^4 UFC/g (Tabela 1).

A legislação brasileira na resolução nº 12 de 02/01/2001 também não preconiza padrões para contagem máxima para coliformes termotolerantes em carne moída (ANVISA, 2001). A contagem de coliformes fecais foi observada em 80% (16/20) das amostras de carne moída analisadas (Tabela 2). Esses resultados permitem classifica-las como inaceitáveis para o consumo, além de indicar sua contaminação direta ou indireta com matéria fecal.

Tabela 1 – Coliformes totais (UFC/g⁻¹) em amostras de carne bovina moída coletadas no comércio da cidade de Uberlândia – MG, analisadas por três diferentes métodos.

Métodos de análise				
Amostra	Compact Dry EC	Compact Dry CF	Petrifilm KC	Tradicional
1	1,6x10 ³	2,0x10 ²	2,0x10 ²	1,0x10 ³
2	1,0x10 ³	4,0x10 ²	1,0x10 ²	5,2x10 ²
3	4,2x10 ³	5,2x10 ³	4,6x10 ³	5,4x10 ³
4	5,0x10 ²	9,0x10 ²	4,0x10 ²	2,0x10 ³
5	1,2x10 ⁴	1,5x10 ⁴	5,7x10 ³	1,2x10 ⁴
6	2,9x10 ³	5,8x10 ³	2,8x10 ³	1,1x10 ⁴
7	Zero	Zero	Zero	Zero
8	6,0x10 ²	5,0x10 ²	5,0x10 ²	6,0x10 ²
9	1,9x10 ³	2,0x10 ³	1,0x10 ³	4,0x10 ³
10	8,0x10 ²	2,3x10 ³	3,0x10 ²	4,4x10 ²
11	2,6x10 ³	1,4x10 ³	6,0x10 ²	5,6x10 ³
12	Zero	Zero	Zero	Zero
13	Zero	Zero	Zero	Zero
14	7,9x10 ⁴	8,3x10 ⁴	9,0x10 ⁴	4,0x10 ⁵
15	3,6x10 ³	3,8x10 ³	2,6x10 ³	1,3x10 ⁴
16	5,0x10 ²	1,7x10 ³	1,5x10 ³	1,3x10 ³
17	1,5x10 ⁴	2,3x10 ³	1,3x10 ⁴	3,8x10 ³
18	Zero	Zero	--	Zero
19	3,1x10 ³	1,6x10 ³	--	2,1x10 ³
20	5,0x10 ²	2,0x10 ³	--	9,2x10 ²

-- não realizada.

Tabela 2 – Coliformes fecais (UFC/g⁻¹) em amostras de carne bovina moída coletadas no comércio da cidade de Uberlândia – MG, analisadas por três diferentes métodos.

Amostra	Métodos de análise			
	Compact Dry EC	Compact Dry CF	Petrifilm KC	Tradicional
1	1,0x10 ²	2,0x10 ²	6,0x10 ²	6,3x10 ²
2	1,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²	1,7x10 ²
3	6,1x10 ³	3,5x10 ³	4,0x10 ³	5,4x10 ³
4	9,0x10 ²	9,0x10 ²	7,0x10 ²	5,2x10 ²
5	8,0x10 ²	8,0x10 ³	3,2x10 ³	7,2x10 ³
6	2,0x10 ²	2,0x10 ²	2,5x10 ³	4,6x10 ³
7	Zero	Zero	Zero	Zero
8	3,0x10 ²	6,0x10 ²	5,0x10 ²	1,2x10 ²
9	1,1x10 ³	1,0x10 ³	9,0x10 ²	2,0x10 ³
10	2,0x10 ²	6,0x10 ²	4,0x10 ²	2,6x10 ²
11	3,0x10 ²	3,0x10 ²	9,0x10 ²	1,1x10 ³
12	Zero	Zero	Zero	Zero
13	Zero	Zero	Zero	Zero
14	2,0x10 ⁴	1,8x10 ⁴	1,2x10 ⁴	3,2x10 ⁴
15	5,0x10 ³	1,0x10 ⁴	2,0x10 ³	1,3x10 ⁴
16	2,0x10 ²	3,0x10 ²	1,0x10 ³	1,3x10 ³
17	1,9x10 ³	1,8x10 ³	6,8x10 ³	3,8x10 ³
18	Zero	Zero	--	Zero
19	1,4x10 ³	1,2x10 ³	--	7,2x10 ²
20	5,0x10 ²	4,0x10 ²	--	9,2x10 ²

-- não realizada.

A ocorrência de *E. coli* foi observada em 41% (7/17) das amostras. Em uma dessas amostras, a contaminação por *E. coli* foi detectada somente na temperatura de incubação a 45°C, tanto em Compact dry EC quanto no Petrifilm KC. Nas demais amostras a contaminação foi positiva para as duas temperaturas de incubação utilizadas, ou seja, 35°C e 45°C, e em ambos os métodos analisados. Os índices de contaminação foram todos da ordem de 10² UFC/g (Tabela 3).

Esses resultados evidenciam esse tipo de alimento como um potencial problema de saúde pública (SOUZA; SILVA, 2004). Esta afirmação ganha ênfase, considerando-se que a enumeração não permite conhecer se há biótipos de *E. coli* patogênicos, como *E. coli* enteropatogênica, *E. coli* enteroinvasora, *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteroagregativa, (MADIGAN et al., 2004).

Tabela 3 – *E. coli* (UFC/g⁻¹) em amostras de carne bovina moída coletadas no comércio da cidade de Uberlândia – MG, analisadas por dois diferentes métodos.

Amostras	Métodos de análise			
	Compact Dry EC 35°C	Petrifilm KC 35°C	Compact Dry EC 45°C	Petrifilm KC 45°C
1	Zero	Zero	Zero	Zero
2	Zero	Zero	Zero	Zero
3	2,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²
4	Zero	Zero	Zero	Zero
5	8,0x10 ²	6,0x10 ²	2,0x10 ²	2,0x10 ²
6	2,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²
7	Zero	Zero	Zero	Zero
8	Zero	Zero	Zero	Zero
9	3,0x10 ²	4,0x10 ²	3,0x10 ²	3,0x10 ²
10	Zero	Zero	Zero	Zero
11	Zero	Zero	Zero	Zero
12	Zero	Zero	Zero	Zero
13	Zero	Zero	Zero	Zero
14	Zero	Zero	1,0x10 ²	3,0x10 ²
15	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	2,0x10 ²
16	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²	1,0x10 ²
17	Zero	Zero	Zero	Zero

Quando os resultados de coliformes totais obtidos foram correlacionados, o coeficiente de correlação (R^2) obtido entre Compact Dry EC e tradicional foi de 0,9567, entre o Compact Dry CF e o tradicional foi de 0,9621, entre Petrifilm e o tradicional foi de 0,9445, entre o Petrifilm e o Compact Dry EC foi de 0,9512, e entre o Petrifilm e o Compact Dry CF foi de 0,9435. A representação gráfica com o coeficiente de correlação e a equação da reta entre os diferentes métodos podem ser observadas nas figuras 1, 2, 3, 4 e 5.

Os resultados encontrados mostraram coeficiente de correlação superior a 0,90 indicando que os métodos são equivalentes para enumeração de coliformes totais. Além disso, eles foram bem próximos entre si. Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos obtidos por Kodaka et al (2006) realizaram enumeração de coliformes totais em carne bovina moída e encontraram coeficiente de correlação de 0,96 quando compararam o Compact Dry EC e o método tradicional e 0,95 entre o Compact Dry CF e o método tradicional.

O índice de correlação entre o Petrifilm e o método tradicional na enumeração de coliformes totais em carne bovina moída obtido por Beloti et. al (2003) e por Park et al. (2001) foram de 0,93 e 0,91, respectivamente.. A correlação entre os métodos rápidos também foi considerada satisfatória. Ferreira (2006) comparando contagens de coliformes totais em cortes de frangos, utilizando o Compact Dry EC e o Petrifilm, obteve $R^2 = 0,9235$.

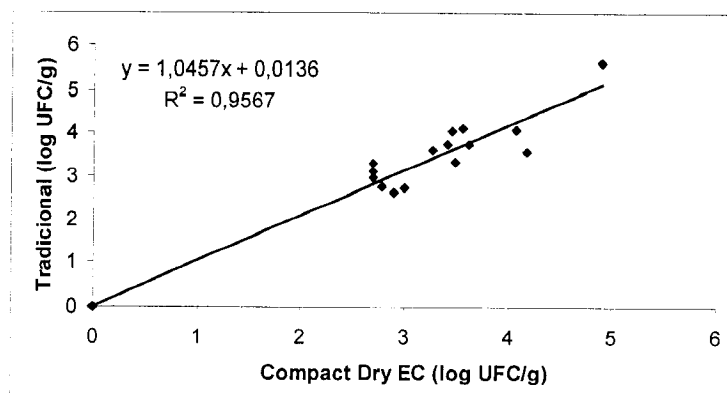


Figura 1 – Regressão linear das contagens de coliformes totais obtidas nos métodos Compact Dry EC e tradicional em 20 amostras de carne bovina moída.

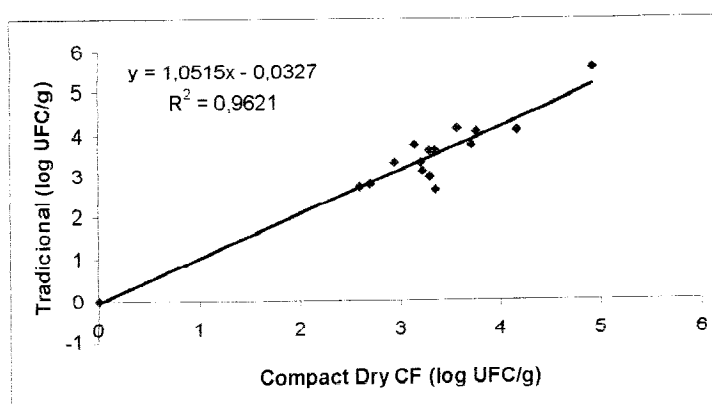


Figura 2 – Regressão linear das contagens de coliformes totais obtidas nos métodos Compact Dry CF e tradicional em 20 amostras de carne bovina moída.

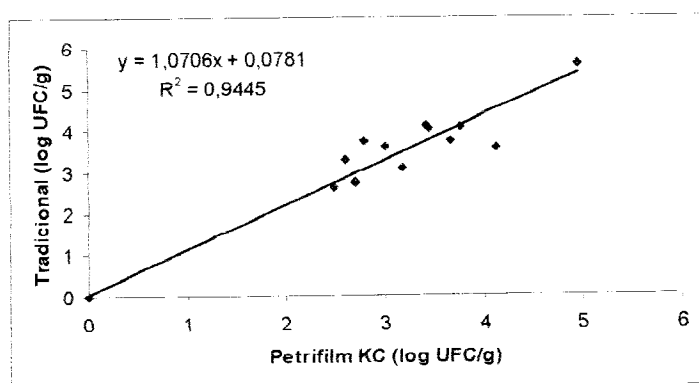


Figura 3 – Regressão linear das contagens de coliformes totais obtidas nos métodos Petrifilm KC e tradicional em 17 amostras de carne bovina moída.

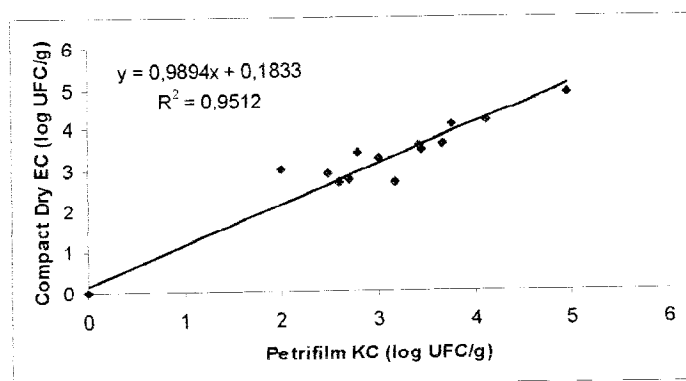


Figura 4 – Regressão linear das contagens de coliformes totais obtidas nos métodos Petrifilm KC e Compact Dry EC em 17 amostras de carne bovina moída.

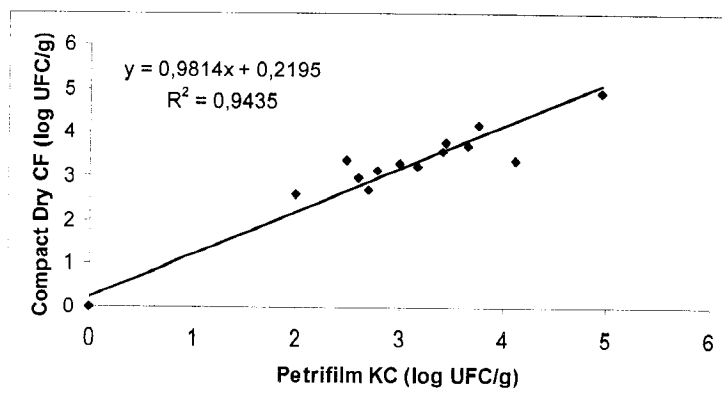


Figura 5 – Regressão linear das contagens de coliformes totais obtidas nos métodos Petrifilm KC e Compact Dry CF em 17 amostras de carne bovina moída.

A incubação dos métodos rápidos a 45°C não é recomendada pelos fabricantes, pois eles foram desenvolvidos para a incubação a 35°C para a enumeração de coliformes totais e *E. coli*. A temperatura de 45°C é empregada como uma alternativa para facilitar a contagem de coliformes fecais. Apesar disso, os coeficientes de correlação obtidos para coliformes fecais entre os três métodos também foram considerados satisfatórios, apesar de ligeiramente inferiores aos observados nas correlações para enumeração de coliformes totais e termotolerantes.

O coeficiente de correlação obtido entre Compact Dry EC e tradicional foi de 0,9137, entre o Compact Dry CF e o tradicional foi de 0,9141, entre Petrifilm e o tradicional foi de 0,9539, entre o Petrifilm e o Compact Dry EC foi de 0,9123, e entre o Petrifilm e o Compact Dry CF foi de 0,9242 (Figuras 6, 7, 8, 9 e 10).

Schraft e Watterworth (2005), ao comparar Petrifilm com o método tradicional para a enumeração de coliformes fecais em água, encontrou um coeficiente de correlação de 0,949 entre os dois métodos.

O coeficiente de correlação obtido entre Petrifilm e o método tradicional nesse trabalho foi maior do que o encontrado por Blackburn et al (1996), que encontrou coeficientes de 0,85 a 0,93 quando comparou estes métodos na enumeração de coliformes fecais em uma grande variedade de alimentos

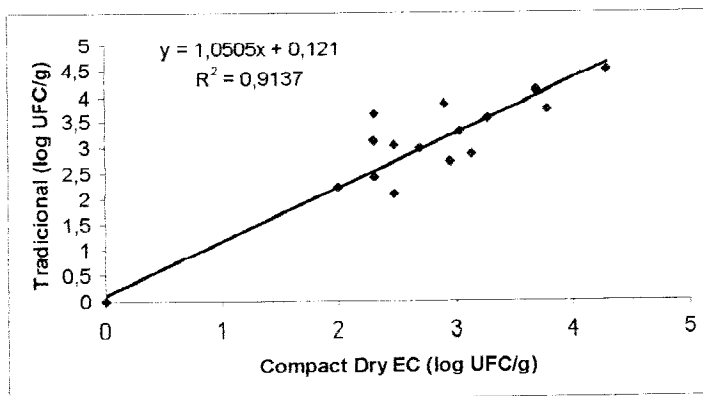


Figura 6 – Regressão linear das contagens de coliformes fecais obtidas nos métodos Compact Dry EC e tradicional em 20 amostras de carne bovina moída.

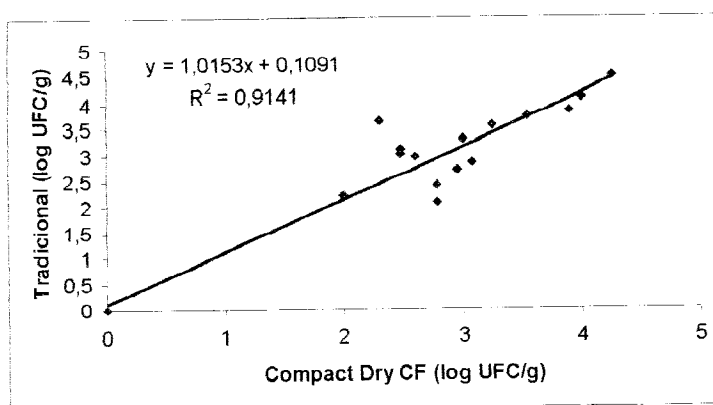


Figura 7 – Regressão linear das contagens de coliformes fecais obtidas nos métodos Compact Dry CF e tradicional em 20 amostras de carne bovina moída.

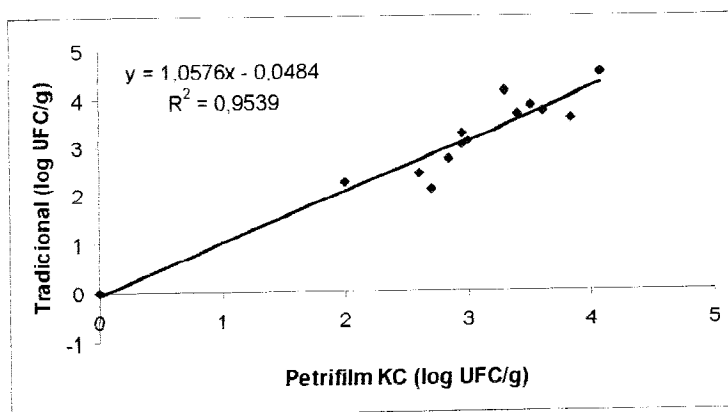


Figura 8 – Regressão linear das contagens de coliformes fecais obtidas nos métodos Petrifilm KC e tradicional em 17 amostras de carne bovina moída.

uma mudança significativa na contagem e na correlação dentro de cada método analisado, ou seja, no Compact dry 35°C e 45°C e Petrifilm 35°C e 45°C.

A partir desses resultados é possível observar que os métodos rápidos podem ser utilizados para a contagem de coliformes fecais, mas o resultado da contagem de *E. coli* obtido na temperatura 45° deve ser ignorado. Dessa forma, a contagem de *E. coli* por esses métodos deve ser feita empregando-se 35°C como temperatura de incubação, de acordo com as instruções dos fabricantes.

O método tradicional de análise da *E. coli* envolve a inoculação em placas, purificação de colônias e identificação bioquímica (SILVA et al., 1996). Além do tempo excessivo, estas etapas podem levar a erros e, dessa forma métodos alternativos vêm sendo implantados nas indústrias.

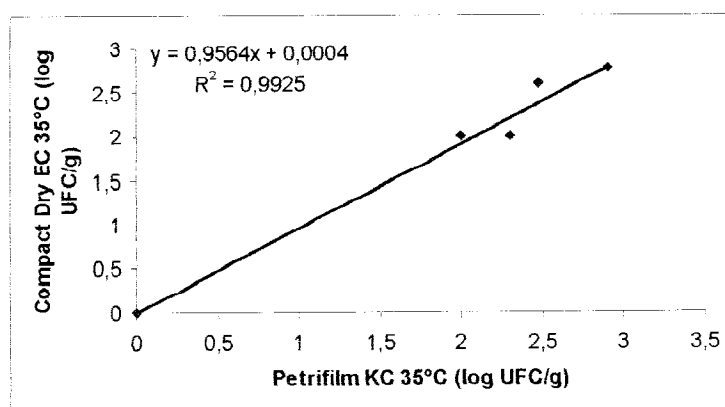


Figura 11 – Regressão linear das contagens de *E. coli* obtidas nos métodos Petrifilm KC e Compact Dry EC a 35°C em 17 amostras de carne bovina moída.

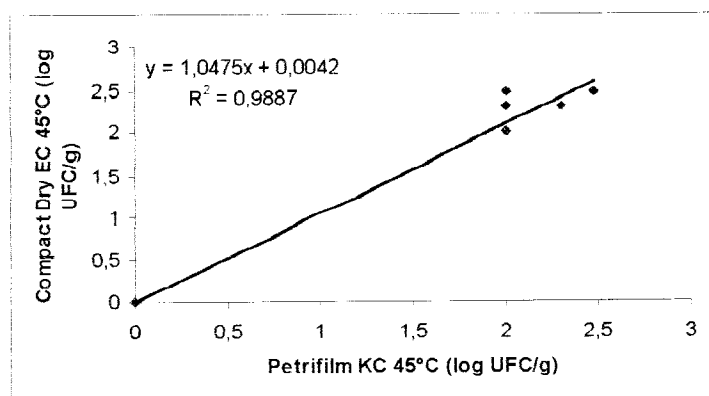


Figura 12 – Regressão linear das contagens de *E. coli* obtidas nos métodos Petrifilm KC e Compact Dry EC a 45°C em 17 amostras de carne bovina moída.

4. CONCLUSÃO

As correlações encontradas entre as contagens de coliformes totais e fecais tanto em Compact Dry como no Petrifilm e o método tradicional foram positivas, significativas e muito semelhantes indicando que os métodos rápidos testados são equivalentes ao método de referência.

Considerando a boa correlação entre as metodologias avaliadas e que o Petrifilm e o Compact Dry são métodos mais simples e práticos, os mesmos podem ser usados como alternativas viáveis, muito mais práticas e rápidas, nas análises microbiológicas de carne moída bovina.

number method (AOAC Official Method 966.24) for enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria in raw meats. **Journal of AOAC International**. vol. 89, n 1, p. 100-114, 2006.

KODAKA, H.; MIZUOCHI, S.; TERAMURA, H.; NIRAZUKA, T.; GOINS, D.; ODUMERU, J.; KOKUBO, Y. Comparison of the Compact Dry CF with the most probable number method (AOAC Official Method 966.24) for enumeration of coliform bacteria in raw meats. **Journal of AOAC International**. vol. 89, n 1, p. 115-126, 2006.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiology of homemade Minas Frescal cheese. **Ciência Rural**. vol. 31, n. 6, p. 1063-1067, 2001.

LOGUERCIO, A.P.; SILVA, W.P.; ALEIXO, J.A.G. Condições higiênico-sanitárias no processamento de carne bovina moída. **Revista Higiene Alimentar**. vol. 19, n.98, p. 63-66, 2002.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MENDONÇA, C. R.; GRANADA, G. G. Coliformes em açougues de Pelotas – RS. **Rev. Bras. De Agrociencia**. Vol. 5, n. 1, p. 75-76, 1999.

PARK, Y.H.; SEO, K.S., AHN, J.S., YOO, H.S., KIM, S.P. Evaluation of Petrifilm plate method for the enumeration of aerobic microorganisms and coliforms in retailed meat samples. **Journal of Food Protection**, 2001.

SCHRAFT, H.; WATTERWORTH, L.A. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3M Petrifilm plates with standard plating procedures. **Journal of Microbiological Methods**, 2005.

SILVA, C.A.; SOUSA, C.P. Estudo da qualidade sanitária da carne moída comercializada na cidade de João Pessoa, PB. **Revista Higiene Alimentar**. vol. 18, n. 121, p. 90-94, 2004.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1996.

SUWANSONTHICHAI, S.; RENGPIPAT, S. Enumeration of coliforms and *Escherichia coli* in frozen black tiger shrimp *Penaeus monodon* by conventional and rapid methods. **International Journal of Food Microbiology**. n. 81, p. 113-121, 2003.

TAVOLARO, P.; RAMAZOTTI, F. A.; DESTRO, M.T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B.D.G.M. Performance of two ready-to-use systems for enumeration of aerobic mesophilic microorganisms in frozen goat milk. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2005.

TORTORA, G. L.; FUNKE, B. R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 6ed. Porto Alegre: ARTMED, 2002.

TRABULSI, L.R.; TOLEDO, M.R.F.D. **Microbiologia**. 3ed. São Paulo: Ateneu, 1999.