DINÂMICA POPULACIONAL DE *Escherichia coli* PATOGÊNICA EM AMBROSIA

MILAN, Camile[1]; FERRASSO, Marina de Mattos[1]; TIMM, Cláudio Dias[1]

[1]Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas
cami_milan@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A ambrosia é um tipo de doce de leite comumente comercializado em feiras livres no Brasil, produzido artesanalmente com leite, ovos e açúcar (BRASIL, 1997). Seu método de produção permite a contaminação por diferentes agentes, como *Escherichia coli*, micro-organismo capaz de fermentar a lactose com produção de ácido e gás (MENG et al., 2001). Sua presença em alimentos remete à contaminação fecal, sendo utilizados como indicadores higiênico-sanitários (TORTORA et al., 2005). A *E. coli* enteroemorrágica (EHEC) possui a capacidade de produzir citotoxinas, seu principal fator de virulência, provocando desde colite hemorrágica até a morte (NATARO & KAPER, 1998; TRABULSI et al., 2004). A *E.coli* enteropatogênica (EPEC) é frequentemente causadora de surtos em países em desenvolvimento, gerando problemas intestinais como diarreia infantil ou neonatal (NATARO & KAPER, 1998).

Avaliar o comportamento de agentes patogênicos em alimentos é de suma importância para que possam ser definidas estratégias de prevenção e controle mais efetivas (HANNAH et al, 2009). Por ser um doce tipicamente artesanal, a ambrosia pode ser facilmente contaminada, devido a problemas durante sua fabricação. Isso implica em possíveis danos ao consumidor após sua ingestão, o que justifica o objetivo do trabalho, que foi avaliar a dinâmica populacional de EPEC e EHEC em ambrosia.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

A ambrosia utilizada na pesquisa foi produzida na proporção de um litro de leite pasteurizado padronizado integral para doze ovos de galinha (gema e clara) e 500 gramas de açúcar cristal. Os ingredientes foram homogeneizados e mantidos ao fogo baixo, sem mexer, por aproximadamente três horas. Após o doce esfriar, amostras de 25 gramas foram armazenadas em sacos estéreis.

EHEC O157:H7 ATCC 43895 e EPEC INCQS 00182 foram cultivadas em 10 mL de caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Acumedia, Lansing, Michigan) a 37°C, por 24 horas, separadamente. Após, foram realizadas contagens em ágar para Contagem Padrão em Placas (PCA, Acumedia, Michigan, USA) para estabelecer as populações obtidas nestas condições de cultura. A partir de diluições seriadas, foram preparados inóculos com as concentrações de 10^5 UFC/mL.

Cada alíquota de 25 g de ambrosia foi contaminada com 0,25 mL de inóculo, de forma que a concentração final ficou com aproximadamente 10^2 células bacterianas por grama de doce. As amostras experimentalmente contaminadas foram homogeneizadas nos sacos em que foram acondicionadas, mantidas a 20ºC e analisadas depois de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 e 30 dias de estocagem. Como controles

negativos, foram utilizadas alíquotas (25 g) de ambrosia não contaminadas experimentalmente.

Para a contagem, foi utilizada a técnica do número mais provável (NMP). Cada alíquota de 25 g foi adicionada de 225 mL de solução salina a 0,85% (m/v) com 20% de glicose para obtenção da diluição 10^{-1}, sendo as demais diluições decimais preparadas a partir desta. Na técnica do NMP, para semear a diluição 10^{0}, 10 mL da diluição 10^{-1} foram adicionados a 10 mL de Caldo Lauril Sulfato (Acumedia) preparado com o dobro da concentração recomendada pelo fabricante. Um mL de cada diluição subsequente foi semeado em uma série de três tubos de ensaio contendo tubos de Durham e 10 mL de Caldo Lauril Sulfato. Os tubos foram incubados a 37°C por 48 horas. Após a incubação, as diluições que apresentaram formação de gás foram repicadas para tubos de ensaio com 10 mL de Caldo Bile Verde Brilhante (Acumedia) com tubos de Durham e incubadas a 37ºC por 48 horas. Os tubos de cada diluição foram contados considerando a formação de gás e os resultados foram obtidos com uso de uma tabela para NMP.

As análises foram realizadas em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve crescimento de *E. coli* enteroemorrágica no doce nos primeiros dias de estocagem em duas repetições (ambrosia B e C), entrando as populações em declínio logo a seguir. A bactéria pode sobreviver até o quinto dia (Tab.1).

Tabela 1: Contagens de *E. coli* enteroemorrágica em ambrosia (NMP/g).

	DIA 0	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5
Ambrosia A	2,8	0,4	1,5	0,4	0,9	0,4
Ambrosia B	15	1100	2,3	0,9	-	-
Ambrosia C	24	11	460	1100	2,3	-

A *E. coli* enteropatogênica apresentou crescimento considerável em uma das repetições (A), mas não sobreviveu além do segundo dia de estocagem nas outras duas repetições (Tab.2).

Tabela 2: Contagens de *E. coli* enteropatogênica em ambrosia (NMP/g).

	DIA 0	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4
Ambrosia A	46	9,3	110	0,9	9,3
Ambrosia B	46	4,3	-	-	-
Ambrosia C	46	4,3	2,3	-	-

Como observado nas tabelas, as *E.*coli testadas sobreviveram por poucos dias na ambrosia, no entanto, a transmissão ao homem por esse alimento não está descartada. Sendo um doce artesanal, os cuidados com a produção e o consumo da ambrosia devem ser levados em conta, verificando-se as condições de armazenamento e de embalagem, pois *E. coli* patogênicas são capazes de sobreviver e até mesmo aumentar sua população no ambiente proporcionado pela mesma.

4 CONCLUSÃO

Escherichia coli enteropatogênica e enteroemorrágica são capazes de permanecer viáveis em ambrosia nos primeiros dias de armazenamento, tempo suficiente para o doce ser consumido, oferecendo riscos ao consumidor.

5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de doce de leite.** Portaria nº 354, de 04/09/97. Diário Oficial da União, Brasília, 08 set. 1997. Seção I, p. 19685.

HANNAH, E.L.; JOHNSON, J.R.; ANGULO, F.; HADDADIM, B.; WILLAMSON, J.; SAMORE, M.H. Molecular analysis of antimicrobial-susceptible and resistant *Escherichia coli* from ratail meats and human stool and clinical specimens in a rural community setting. **Foodborn Pathog. Dis.**, v. 6, n. 3, 2009.

MENG, J.; DOYLE, M.P.; ZHAO, T.; ZHAO, S. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. **Food microbiology: fundamental and frontiers**. 2. ed. Washington: ASM, 2001, p. 141-77.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.**, 1998.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 8 ed. Rio de Janeiro. Artmed, 2005.

TRABULSI, L.R.; ALTHERTHUM, F.; GOOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia.** 4ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.