

## COMPORTAMENTO DE *Salmonella* SOROTIPO TYPHIMURIUM EM DOCE DE LEITE PASTOSO

**SILVEIRA, Débora<sup>1</sup>; LOPES, Nathalie<sup>1</sup>; GONZALEZ, Helenice<sup>1</sup>; TIMM, Cláudio<sup>1</sup>**

Laboratório<sup>1</sup> de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. <http://www.ufpel.tche.br/veterinaria/inspleite>

### 1 INTRODUÇÃO

O doce de leite é um alimento obtido por concentração do leite adicionado de sacarose (BRASIL, 1997). Os alimentos podem ser contaminados por práticas inadequadas na indústria durante o processamento, nos centros de distribuição, no mercado varejista ou na casa do consumidor (JAY, 1992; SILVA JR., 1996). Caso a manipulação não seja realizada de maneira higiênica e com cuidados sanitários, poderá ocorrer contaminação do produto, com consequentes riscos ao consumidor.

O doce de leite pastoso é um produto de grande aceitação na América Latina, sendo bastante comum o fracionamento para comercialização. Devido à baixa atividade de água e alta concentração de açúcar, o doce de leite não apresenta condições favoráveis à multiplicação microbiana, entretanto, Hendges et al. (2010) relataram que, ao contaminar alíquotas deste produto com *Salmonella* Typhimurium nas concentrações  $10^1$  e  $10^3$  células bacterianas por grama, o microrganismo se manteve viável por até 30 dias.

*Salmonella* é um importante patógeno que utiliza como reservatório o trato gastrointestinal do homem e de animais, causando enfermidades. Por ser frequentemente isolado de produtos de origem animal, é de grande importância na inspeção de alimentos para garantia da segurança alimentar. São estimados 1,4 milhões de casos ocorridos anualmente nos Estados Unidos. Desses, aproximadamente 40.000 foram confirmados por isolamento (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2010). O sorotipo Typhimurium é um dos sorotipos mais frequentemente implicados em casos de salmonelose e seu isolamento vem aumentando em várias partes do mundo (MISHU et al., 1994).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis em doce de leite pastoso.

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O doce de leite pastoso para contaminação experimental foi preparado com leite padronizado a 3% de lipídios, adicionado de 200 g de sacarose para cada litro, mantido em agitação a 100-105 °C por 2 horas e 30 minutos. Cultura em caldo Infusão de Cérebro e Coração a 37 °C por 24 horas de duas cepas de *Salmonella*

*enterica* subsp. *enterica* sorotipo Typhimurium, uma ATCC 13311 (LIPOA 2047) e outra previamente isolada de doce de leite pastoso (LIPOA 2046), foram utilizadas como inóculos. Alíquotas de 25 g do doce de leite pastoso foram acondicionadas em embalagens plásticas esterilizadas e contaminadas com 0,25 mL da cultura diluída, de forma a obter-se a concentração final de  $10^2$  células bacterianas/g de doce. Uma amostra de doce de leite pastoso não contaminado experimentalmente foi utilizada como controle negativo. As amostras foram analisadas após 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 10 dias de estocagem a aproximadamente 25 °C. As contagens de *Salmonella* foram realizadas pelo método de número mais provável (NMP). Diluições seriadas das alíquotas de doce de leite experimentalmente contaminadas foram semeadas em tubos com Água Peptonada Tamponada e incubadas a 37 °C por 20 horas. A presença de *Salmonella* em cada tubo foi pesquisada conforme recomendado por U.S. Food and Drug Administration – FDA (ANDREWS & HAMMACK, 2007). Os resultados foram interpretados com uso de tabela de NMP. O experimento foi realizado em triplicata.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

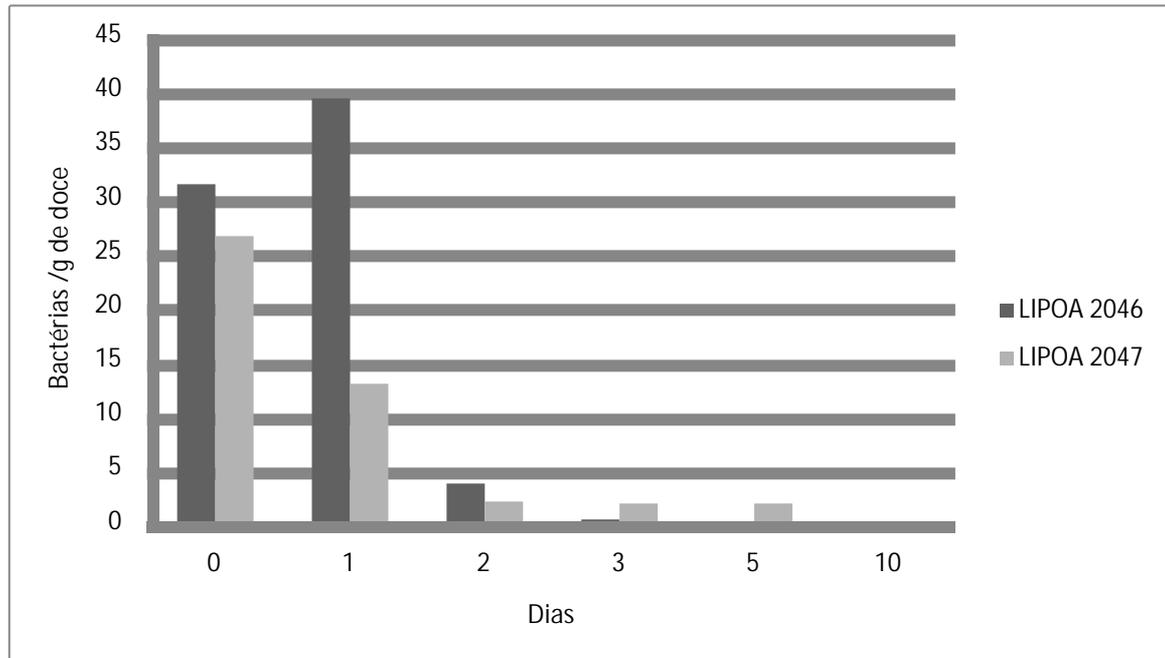
A cepa LIPOA 2046 utilizada para a contaminação experimental apresentou crescimento inicial em doce de leite pastoso e sua população aumentou após o primeiro dia de estocagem e depois entrou em declínio até que células bacterianas viáveis não foram mais detectadas no alimento (Fig. 1). Esta cepa foi previamente isolada de doce de leite pastoso em um trabalho realizado na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, por TIMM et al. (2007). Estes autores analisaram amostras de doce de leite pastoso fracionadas no comércio varejista para venda em pequenas porções e observaram que essa prática aumenta o risco de contaminação do produto. Muitas vezes, o doce de leite é consumido pouco tempo após sua aquisição no mercado varejista, situação em que a sua contaminação, mesmo por uma cepa que sobreviva por apenas três dias neste ambiente, constitui um perigo para a saúde do consumidor.

A cepa ATCC 13311 (LIPOA 2047) não apresentou crescimento no doce de leite pastoso, mas se manteve viável até o quinto dia de estocagem. Estes resultados deixam claro que *Salmonella* de diferentes linhagens apresentam comportamento distinto no ambiente proporcionado pelo doce de leite pastoso, indicando que as adaptações à sobrevivência nos alimentos não é igual entre as cepas.

A capacidade de *Salmonella* sobreviver em alimentos tem sido relatada em outros produtos lácteos. Borges et al. (1990) inoculou *Salmonella* em leite cru previamente à elaboração de queijos e constatou que esta enterobactéria é capaz de se manter viável até 45 dias de maturação. Modi et al. (2001) também relataram que este microrganismo sobrevive por longos períodos em leite cru e leite padronizado. Deve-se considerar ainda que a dose infectante de *Salmonella* Typhimurium pode ser menor que 10 células bacterianas (D'AOUST et al., 2001). Portanto, a simples presença da bactéria no alimento, mesmo em baixas concentrações, como observado no terceiro dia após a contaminação do doce pela

cepa LIPOA 2047 , é suficiente para suscitar preocupações em termos de segurança alimentar.

Figura 1: Contagens de *Salmonella* sorotipo Typhimurium em doce de leite pastoso contaminado experimentalmente (média de três repetições).



#### 4 CONCLUSÕES

*Salmonella* Typhimurium é capaz de se manter viável no doce de leite pastoso durante dias e, as vezes aumentar temporariamente sua população. A adaptação do patógeno a este tipo de alimento é distinta entre diferentes cepas.

#### 5 REFÊRENCIAS

ANDREWS, W.H., & HAMMACK, T. *Salmonella*. U.S. Food and Drug Administration, **Bacteriological analytical manual online**, Chapter 5, 2007. Disponível em: < <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-5.html>>. Acesso em: 04 de agosto de 2011.

BORGES, MF.; FEITOSA, T.; NASSU, R.T.; MUNIZ, C.R.; AZEVEDO, E.H.F.; FIGUEIREDO, E.A.T. Microorganismos patogênicos e indicadores em queijo de coalho produzido no estado do Ceará. Brasil. **Boletim do CEPPA**, v.21, n.1, p.31-40, 2003.

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.

CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Salmonella**: technical information, 2010. Disponível em:

<<http://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html#top>> acesso em 12 de agosto de 2011.

D'AOUST, J.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. **Food microbiology**: fundamental and frontiers. 2. ed. Washington: ASM, 2001, p. 141-77.

HENTGES, Denise.; SILVA, Daiani Teixeira da ; DIAS, Priscila Alves ; CONCEIÇÃO, Rita de Cássia dos Santos da ; ZONTA, Miriam Nunes ; TIMM, C. D. . Pathogenic microorganism survival in *dulce de leche*. **Food Control**, v. 21, p. 1291-1293, 2010.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 3th ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.

MISHU, B.; KOEHLER, J.; LEE, L.A.; RODRIGUE, D.; HICKMAN-BRENNER, F.; BLAKE, P.; TAUXE, R.V. Outbreaks of *Salmonella* Enteritidis infections in the United states, 1985-1991. **Journal unfetion Disease**, v. 169, p. 547-552, 1994.

MODI, R.; HIRVY, Y.; HILL, A.; GRIFFITHS, M.W. Effect of phage os survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. **International Association for Food Protection**, v.64, n.7, p.927-933, 2001.

TIMM, C.D.; CONCEIÇÃO, R.C.S.; COELHO, F.J.O.; ROOS, T.B.; TEJADA, L.S.; QUEVEDO, P.S.; HENTGES, A.; BRASIL, N.D.A. Avaliação microbiológica de doce de leite pastoso. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.3, p.275-277, 2007.