

Validação do método de contagem de *Staphylococcus aureus* (Linnaeus, 1735) em amostras de camarão congelado.

Ione Pinheiro dos Santos¹ (PQ), Leticia de Alencar Pereira^{1*} (PQ), Alessander Acácio Ferro¹ (PQ)

¹Centro de Tecnologia Industrial Pedro Ribeiro – SENAI/BA. Av Luiz Tarquínio Pontes, nº 938, CEP: 42700-000, Lauro de Freitas-BA. Fone: (71)-3379-8308. E-mail: leticiap@cetind.fieb.org.br

Palavras Chave: validação, métodos microbiológicos, *Staphylococcus aureus* (Linnaeus, 1735), camarão.

Introdução

Os alimentos são passíveis de contaminação por diferentes agentes etiológicos, que podem levar ao desenvolvimento de doenças, afetando a saúde humana, desencadeada por microrganismos patogênicos ou suas toxinas. Ressalta-se que todos os alimentos devem ser objetos de exames microscópicos e microbiológicos. Estes exames refletem as condições higiênicas que envolvem a produção, armazenamento, transporte e manuseio para elucidar a ocorrência de enfermidades transmitidas por alimentos¹. Dentre os microrganismos patogênicos clássicos indicadores sanitários estão os *Staphylococcus aureus* (Linnaeus, 1735).

A utilização de métodos de detecção de microrganismos em alimentos é uma das ferramentas utilizadas para garantir a segurança microbiológica dos produtos. Porém, para garantir resultados confiáveis, a metodologia utilizada deve ser validada². Apesar dos métodos normalizados já serem validados, deve-se verificar a sua conformidade nas condições reais de uso, podendo-se utilizar parâmetros como: repetitividade, exatidão (recuperação) e limite de detecção³.

Resultados e Discussão

A análise prévia de um lote de camarão congelado demonstrou ausência de *Staphylococcus aureus*. Em seguida, preparou-se a fase estacionária de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P para fortificação da matriz (camarão) em três faixas de concentração e paralelamente as diluições de 10^{-7} ; 10^{-8} e 10^{-9} foram semeadas por profundidade em ágar Plate Count (ágar não seletivo) para cálculo do número de unidades formadoras de colônias (UFC) da fase estacionária (FE), estas placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 48h na temperatura de $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Na diluição 10^{-7} foram encontradas 112 UFC/mL, na diluição 10^{-8} foram encontradas 10 UFC/mL e na diluição 10^{-9} foram encontradas 1 UFC/mL, o que demonstra uma F.E. com uma concentração média de células de 1×10^9 UFC/mL.

Tabela 1. Resultados do limite de repetitividade e recuperação nas três faixas de concentração para 10 replicatas.

VR	n	Média	DP	Limite de r (a 95%)	%R.	t calc.	t crít.
2,4771	10	2,482	0,038	0,105	100,2	0,41	2,26
1,4771	10	1,511	0,116	0,320	102,	0,92	2,26
0,4771	10	0,4304	0,281	0,779	90,2	0,52	2,26

Legenda:

VR = Valor de referência

n = nº de replicatas

DP = Desvio Padrão

Limite de r = limite de repetitividade

%R = recuperação

O LDM determinado foi igual ao número de células inoculadas na maior diluição no agar não seletivo (Agar Plate Count) e que ofereceu resultado positivo, sendo neste caso 1 UFC na diluição 10^{-9} mL, logo, LDM 10^{-9} = 1 UFC/g.

Conclusões

A exatidão foi testada através do Teste t, bem como através da recuperação, demonstrando resultados satisfatórios.

Apesar do fato de que a fase estacionária pode variar sensivelmente a depender das condições analíticas, a validação do método de determinação de *Staphylococcus aureus* (Linnaeus, 1735) foi satisfatória, demonstrando que a metodologia pode ser reproduzida sob condições reais de uso na rotina laboratorial.

Agradecimentos

SENAI-CETIND, CNPq, SENAI-DN, SENAI-BA, FAPESB, FINEP.

¹ Cunha Neto A; Silva, C. G. M. e Stamford, T. L. M.; *J. Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2002**, 22, 3.

² Freitas, E. I.; Lemos, A. A. e Marin, V. A.; *J. Ciênc. Saúde. Col.* **2006**, 11, 4.

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

³ EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 1.ed. 1998.