

CRESCIMENTO E TERMO-RESISTÊNCIA DA *YERSINIA* *ENTEROCOLITICA*, SOROTIPO 0₃ *

Dilma Scala GELLI **

RIALAA6/539

GELLI, D.S. — Crescimento e termo-resistência da *Yersinia enterocolitica*, sorotipo 0₃. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2):9-16, 1982.

RESUMO: Foram usados alguns substratos, nos pH 5,0, 7,0 e 9,0, para se verificar a influência sobre o crescimento e termo-resistência da *Yersinia enterocolitica*, sorotipo 0₃, quando relacionados a diferentes temperaturas, tempos de incubação e exposição. Para a avaliação do crescimento, após a inoculação de determinado número de células viáveis, e incubação por 1, 3, 5, 7 e 30 dias, observou-se que, a menos 15°C, a cepa não se multiplica; a 42°C, após 24 horas, encontra-se destruída; a 25°C, o período de adaptação nos diferentes substratos é menor, quando comparado com o das temperaturas de 8 e 37°C; o pH 5,0 favorece o desenvolvimento desta bactéria, e a pectina de batata é particularmente desfavorável à mesma. Para os testes de termo-resistência, as temperaturas selecionadas foram de 68 e 72°C, por períodos de exposição de 1, 2, 4, 6 e 10 minutos, usando-se os mesmos substratos testados no crescimento. Após estes testes, os tubos expostos à ação térmica foram incubados a 8°C, por 25 dias e, em alguns substratos e pH, a cepa foi capaz de se recuperar da injúria que sofrera com o calor.

DESCRITORES: *Yersinia enterocolitica*, sorotipo 0₃; *Yersinia enterocolitica*, crescimento e termo-resistência em diversos substratos; pH; temperatura.

INTRODUÇÃO

Desde o seu primeiro isolamento, a *Yersinia enterocolitica* recebeu diversas denominações, tais como a de *Pasteurella pseudotuberculosis* tipo b, e a de *Pasteurella X*. Esta bactéria apresenta características peculiares; sua capacidade de se desenvolver a 4°C é útil no seu primeiro isolamento a partir de materiais pluricontaminados; seu fenótipo varia de acordo com o ambiente; quanto à temperatura, por exemplo, é flagelada a 22°C e não apresenta flagelos a 37°C, e a caracterização de sua ação patogênica em animais de laboratório depende do meio de cultura usado para a obtenção do inóculo, da temperatura de incubação do mesmo e, evidentemente, da via de inoculação^{2, 8, 9}.

A identificação desta bactéria é feita através de: a) biotipos, segundo os esquemas de NILÉHN e de WAUTERS; b) sorotipos, tendo sido descritos 34 antígenos somáticos e 19 flagelares, estes últimos de pouco interesse, uma vez que estão associados a antígenos somáticos específicos; c) fagotipos^{2, 8, 9, 10, 11}.

A *Y. enterocolitica* é responsável por infecções humanas, como enterocolite e adenite mesentérica, e está relacionada entre os agentes de toxi-infecções de origem alimentar, tendo já causado surtos epidêmicos. É isolada do solo, da água, de animais silvestres e domésticos, de hortaliças e legumes, de sorvetes, ostras, leite, etc.^{1, 2, 6, 7, 8, 9, 10, 11}.

Alguns aspectos da *Y. enterocolitica* pouco conhecidos estão relacionados com a conservação e processo tecnológico de obtenção de ali-

* Realizado no Departamento de Microbiologia da "Ecole National Supérieure de la Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (ENSBANA), Université de Dijon", Dijon, França, sob a orientação do Prof. Dr. Victor Caumartin.

** Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

mentos. Através de experimentos de laboratório observou-se que, quando inoculada na carne, esta bactéria é capaz de resistir à temperatura de 51°C, mas não à de 62°C, quando do cozimento normal para obtenção de rosbife; porém, se a inoculação for realizada após o cozimento, a bactéria se multiplica neste substrato, tanto a 25 como a 37°C. HANNA *et alii* testaram a termo-resistência de cinco diferentes cepas de *Y. enterocolitica*, em contato com o leite, verificando que nenhuma delas resistia por mais de 3 minutos, a 60°C, e que duas dentre elas sobreviveram quando expostas a 51°C, pelo mesmo período de tempo. Usando como substrato o meio de infusão de cérebro e coração (BHI), em diferentes pH, estes autores observaram que a cepa testada se desenvolveu em ordem decrescente, nos pH 8,0, 7,0, 6,0 e 9,0, tendo permanecido viável, sem se multiplicar, no pH 5,0, após 24 horas de incubação, a 25°C^{2, 4, 5}.

Este trabalho foi realizado com a cepa *Y. enterocolitica* 134:0₃, sorotipo e fagotipo prevalente de infecções humanas na França, para verificar seu comportamento, frente a diferentes substratos, temperaturas e pH.

MATERIAL E MÉTODOS

Cepa

Yersinia enterocolitica 134:0₃, fornecida pelo Dr. H. H. Mollaret do Instituto Pasteur de Paris.

Manutenção da cepa e preparo do inóculo

A cepa foi mantida em ágar tripton de soja em tubos. Os inóculos foram preparados em água peptonada a 0,1%, pH 7,2 e incubados a 25°C por 24 horas.

Determinação do número de células viáveis

As diluições necessárias foram preparadas em água peptonada a 0,1%, pH 7,2. As sementeiras foram realizadas na superfície do meio ágar tripton de soja, distribuído em placas (0,1 ml de cada diluição). Foram incubadas a 25°C por 72 horas, após as quais foi efetuada a contagem de colônias.

Testes de avaliação do crescimento e da termo-resistência

a) Meios

Foram preparados sobre o meio base de água peptonada a 0,1%, por adição de glicose, maltose, celulose microcristalina, amido solúvel e leite desnatado, na concentração final de 2%, e por adição de pectina de batata e glicogênio, na concentração de 0,1%, nos pH 5,0, 7,0 e 9,0. Estes meios foram distribuídos à razão de 9 ml por tubo.

b) Crescimento

Após a inoculação da cepa, os tubos foram incubados a menos 15°C e 8, 25, 37 e 42°C, por 24 horas e por 3, 5, 7 e 30 dias. Depois de cada período de incubação, retirou-se um tubo de cada substrato em cada pH, para se proceder à contagem de células viáveis, con-

forme já descrito. Os tubos foram manipulados uma única vez.

c) Termo-resistência

Após a inoculação da cepa, os tubos foram levados a banhos-maria; um dos banhos foi regulado a 68°C e o outro, a 72°C. Depois de 1, 2, 4, 6 e 10 minutos de exposição, foi retirado um tubo de cada pH e substrato para se proceder à contagem de células viáveis, conforme descrito. Os cuidados necessários à condução do teste foram observados, tais como a flambagem da parte superior do tubo que não continha meio de cultura, e a imersão completa no banho-maria da parte que o continha.

d) Recuperação da cepa após o tratamento térmico

Os tubos, depois de expostos ao calor, foram incubados a 8°C, por 25 dias, após o que se procedeu à verificação da presença qualitativa de células viáveis da *Y. enterocolitica* semeada.

RESULTADOS

Os resultados da avaliação do crescimento da *Y. enterocolitica* estão expressos nos gráficos (fig. 1 e 2), assim como a quantidade inicial de células presente nos meios.

Os resultados obtidos a 15°C negativos, não expressos nos gráficos, revelaram que a cepa não apresentou aumento ou diminuição significativos do número inicial de células; porém, manteve-se viável até o final das observações. Os resultados a 42°C, também não expressos nos gráficos, revelaram ausência de células viáveis após 24 horas de incubação, em todos os substratos, nos pH testados. Entretanto, não se determinou o tempo mínimo necessário depois do qual não era mais possível recuperar a cepa.

Pela observação dos gráficos de crescimento (fig. 1 e 2) conclui-se que o aumento do número de células é marcante só após 7 dias de incubação a 8 e 37°C, enquanto que, a 25°C, a fase de adaptação e multiplicação é mais rápida. Alguns substratos e pH parecem favorecer o desenvolvimento da *Y. enterocolitica*, como o leite desnatado, o glicogênio e o amido, em pH 7,0, nas temperaturas de 8 e 37°C, e a glicose e a maltose, em pH 5,0, na temperatura de 25°C. Entretanto, se não considerarmos a variável período de incubação, a cepa se multiplica em todos os meios e temperaturas testados, com exceção dos meios com pectina de batata e dos incubados a 42 e -15°C.

Os resultados da avaliação da termo-resistência, conforme os gráficos (fig. 3 e 4), demonstram que o pH 5,0 parece proteger a cepa contra a ação do calor. Dependendo do substrato, a termo-resistência varia; assim, os substratos de proteína, de açúcar ou de celulose favorecem a cepa, enquanto que a pectina de batata a desfavorece.

A cepa testada recuperou-se da injúria física causada pelo tratamento térmico, como segue: glicose em pH 5,0, até 6 minutos a 68°C, e até 2 minutos a 72°C; glicose, maltose, leite desnatado e glicogênio em pH 7,0, até 10 minutos a 68°C.

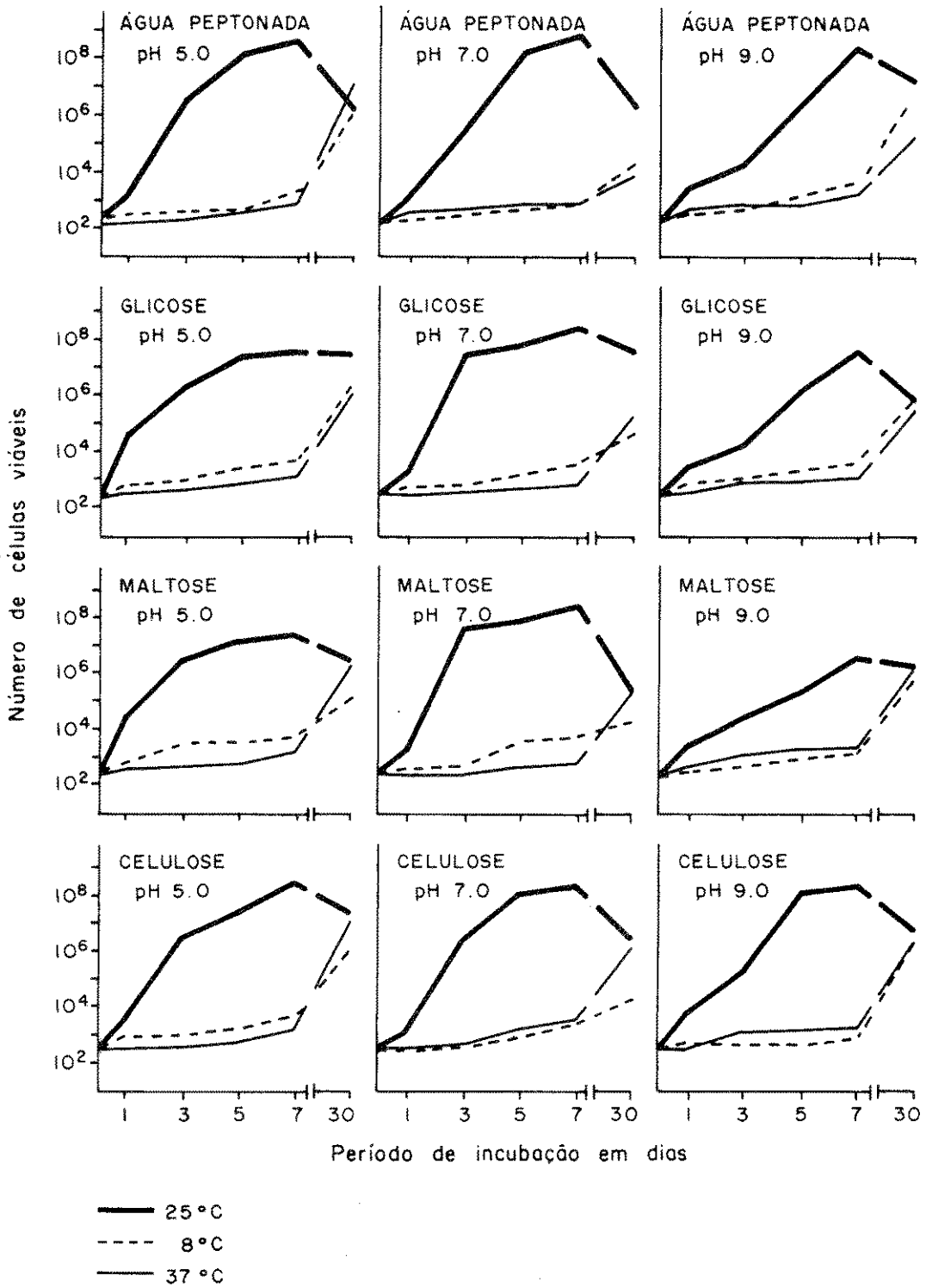


FIGURA 1 — Gráficos de avaliação de crescimento da *Yersinia enterocolitica* frente a diversos substratos em diferentes pH.

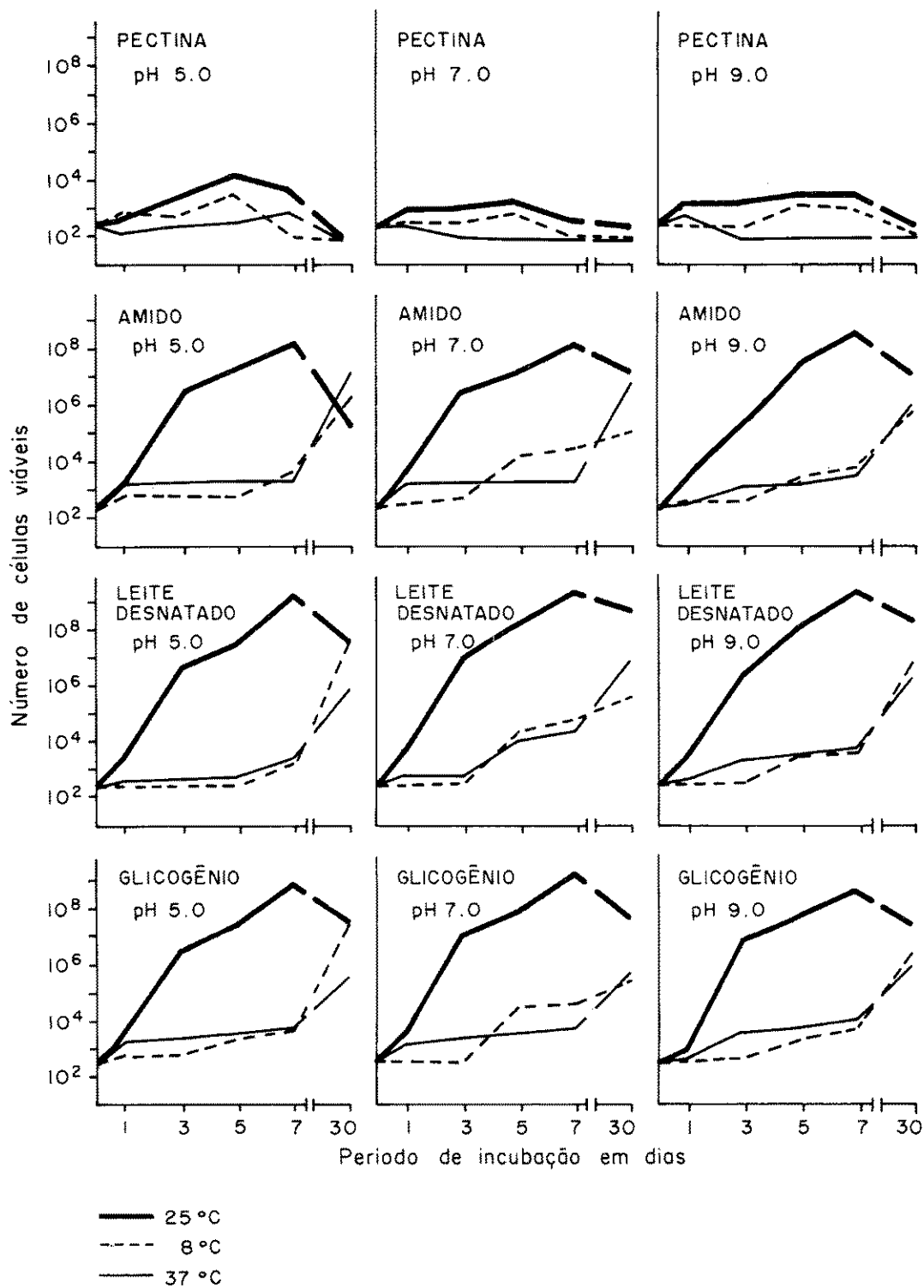


FIGURA 2 — Gráficos de avaliação de crescimento da *Y. enterocolitica* frente a diversos substratos em diferentes pH.

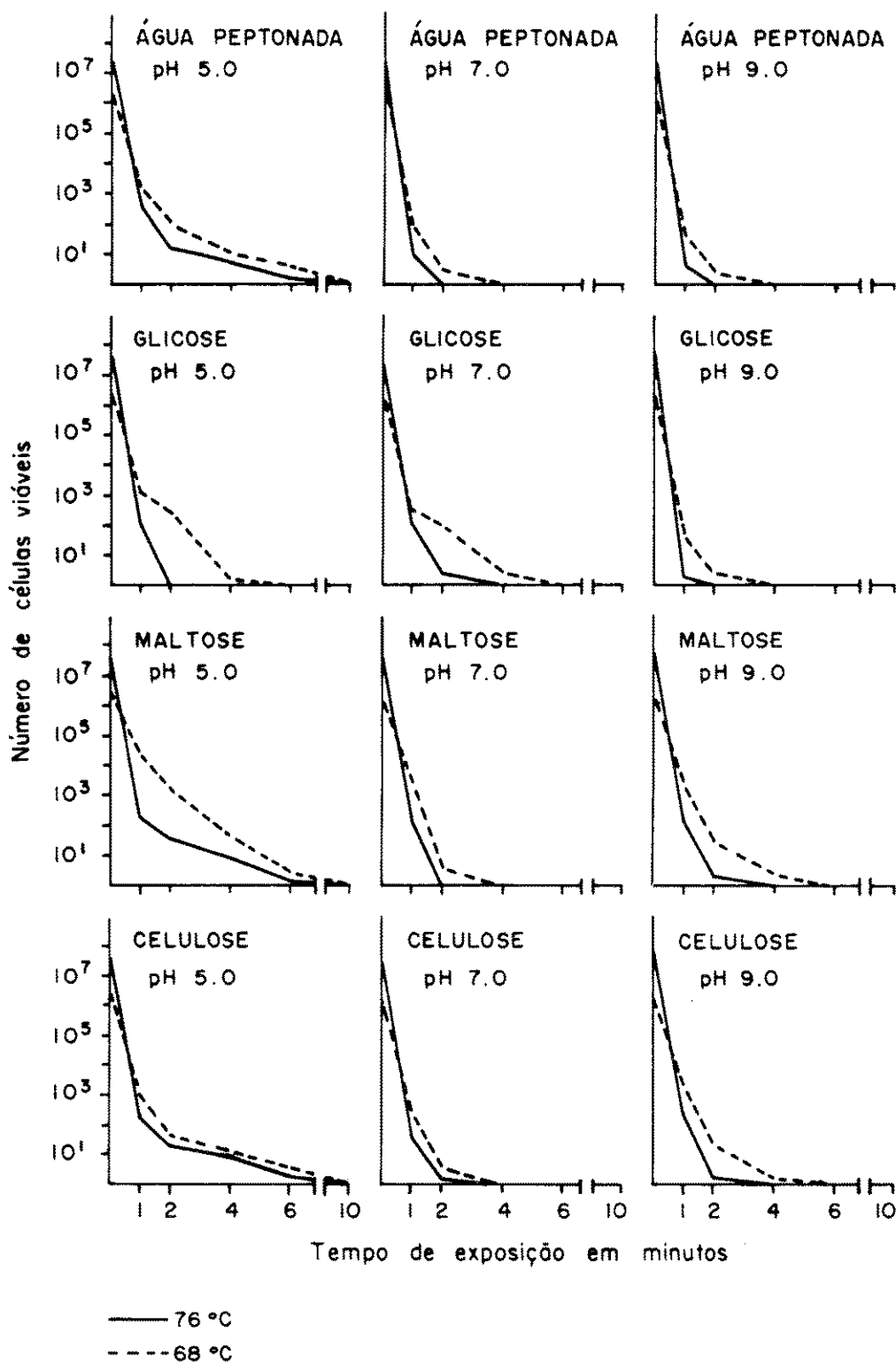


FIGURA 3 — Gráficos de avaliação de termo-resistência da *Y. enterocolitica* frente a diversos substratos em diferentes pH.

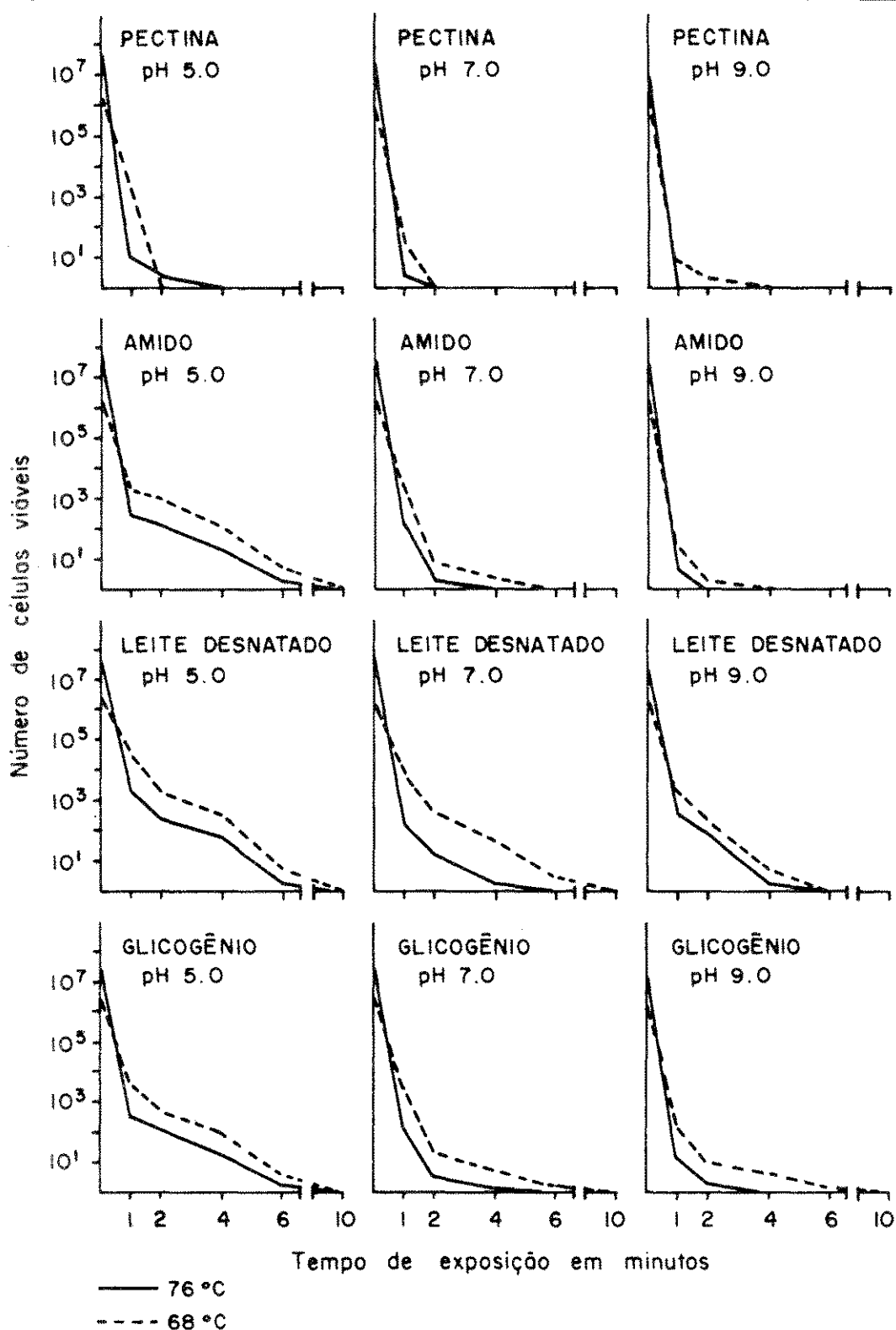


FIGURA 4 — Gráficos de avaliação de termo-resistência da *Y. enterocolitica* frente a diversos substratos em diferentes pH.

CONCLUSÕES

Os substratos usados estão relacionados com alguns dos elementos presentes nos alimentos. É importante assinalar que pode ocorrer ação sinérgica entre estes elementos e o pH do produto, influinto positiva ou negativamente no desenvolvimento e na termo-resistência da *Y. enterocolitica*. Entretanto faltam observações referentes às substâncias de natureza lipídica.

A recuperação da célula após o tratamento térmico, apesar de aspecto bem caracterizado considerado para o isolamento de *Salmonella* sp., a partir de alimentos que sofreram tratamento térmico, tem implicações adicionais no que diz respeito à *Y. enterocolitica*, também agente de toxi-infecções alimentares, ma vez que esta é capaz de se multiplicar a temperatura de geladeira (de 0 a 8°C), apesar de ocorrer uma diminuição marcante o número de células viáveis após um minuto

de exposição às temperaturas testadas, úteis no processo de pasteurização, é preciso considerar que a efetividade deste processo depende também do número inicial de células presentes, da natureza do produto e do seu pH, assim como das condições de manutenção do produto acabado.

Os resultados fornecidos por este e pelos trabalhos de HANNA *et alii*^{3, 4, 5} complementam-se e as pequenas diferenças justificam-se: as cepas testadas não são as mesmas, as observações do presente trabalho se estenderam por 30 dias, e há pequenas variações na metodologia empregada.

As informações apresentadas devem ser consideradas no que diz respeito aos processos tecnológicos de obtenção de alimentos e de seu transporte, assim como de conservação de matérias-primas e produtos acabados; além disso, permitem avaliar o comportamento da *Y. enterocolitica* frente às variáveis testadas.

RIALA6/539

GELLI, D.S. — *Yersinia enterocolitica*, serotype O₃; growth and thermoresistance. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 42(1/2):9-16, 1982.

ABSTRACT: The influence of substracts at pH 5.0, 7.0 and 9.0 and incubation temperatures on the growth and thermoresistance of a strain of *Yersinia enterocolitica* serotype O₃ was observed. For assessing growth after inoculation of a given number of viable cells, cultures were observed at the end of 1, 3, 5, 7 and 30 days. At -15°C there was no multiplication, although the germ was viable; at 42°C, it was destroyed before 24 hours; at 25°C, the adaptation period is shorter, as compared with temperatures of 8° and 37°C. At pH 5.0, growth was favored and potato pectins were particularly unfavorable. Temperatures of 68 and 72°C during 1, 2, 3, 4, 6 and 10 minutes was used for the thermoresistance. At pH 5.0, thermoresistance was greater. The presence of protein, sugars and cellulose substracts favored the strain while potato pectins reduced that characteristic. After the latter tests, tubes were incubated at 8°C for days. Some substracts allowed a recovery from the thermal injury.

DESCRIPTORS: *Yersinia enterocolitica*, serotype O₃; *Yersinia enterocolitica*, growth and thermoresistance in some substracts; pH; temperature.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLACK, R.E.; JACKSON, R.J.; TSAI, T.; MEDVESKY, M.; SHAYEGANI, M.; FEELEY, J.C.; MAC LOED, K.I.E. & WAKELEE, A.M. — Epidemic *Yersinia enterocolitica* infection due to contaminated chocolate milk. *New Engl. J. Med.*, 298:76-9, 1978.
- FEELEY, J.C.; LEE, W.H. & MORRIS, G.K. — *Yersinia enterocolitica*. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Intersociety Agency Committee on Microbiological Methods for Foods — *Compendium for the microbiological examination of foods*. [Washington, D.C., c1976] p. 351-7.
3. HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; CARPENTER, Z.L. & VANDERZANT, C. — Effect of heating, freezing and pH on *Yersinia enterocolitica* like organisms from meat. *J. Food Protect.*, 40:689-92, 1977.
4. HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; CARPENTER, Z.L. & VANDERZANT, C. — Heat resistance of *Yersinia enterocolitica* in skim milk. *J. Food Sci.*, 42:1134, 1136, 1977.
5. HANNA, M.O.; STEWART, J.C.; ZINK, D.L.; CARPENTER, Z.L. & VANDERZANT, C. — Development of *Yersinia enterocolitica* on raw and cooked beef and pork at different temperatures. *J. Food Sci.*, 42:1180-4, 1977.

6. HIGSMITH, A.K.; FEELEY, J.C.; SKALIY, P.; WELLS, J.G. & WOOD, B.T. — Isolation of *Yersinia enterocolitica* from well water and growth in distilled water. *Appl. environ. Microbiol.*, 34:745-50, 1977.
7. MOLLARET, H.H. — Un domaine pathologique nouveau: l'infection à *Yersinia enterocolitica*. *Ann. Biol. clin.*, 30:1-6, 1976.
8. MOLLARET, H.H. & CHEVALIER, A. — Contribution a l'étude d'un nouveau group de germes proches du bacille de Malassez et Vignal. I. Caractères culturaux et biochimiques. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 107:121-7, 1964.
9. MOLLARET, H.H. & LUCAS, A. — Sur les particularites biochimiques des souches de *Yersinia enterocolitica* isolées chez les lièvres. *Ann. Inst. Pasteur, Paris*, 108:121-5, 1965.
10. MORRIS, G.K. & FEELEY, J.C. — *Yersinia enterocolitica*: a review of its role in food hygiene. *Bull. WHO*, 54:79-85, 1976.
11. SCHIEMANN, D.A. & TOMA, S. — Isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw milk. *Appl. environ. Microbiol.*, 35:54-8, 1978.

Recebido para publicação em 20 de julho de 1981.