



Instituto Politécnico
de Castelo Branco

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Pereira, Alexandra Isabel Adolfo

Sobrevivência de Staphylococcus coagulase-positiva em diferentes condições de temperatura, NaCl e pH

<https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/622>

Metadados

Data de Publicação	2013
Resumo	O presente trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária de Castelo Branco, visa estudar a sobrevivência de oito culturas de Staphylococcus perante diferentes condições de temperatura, pH e NaCl durante um período de incubação de 20 dias. Para este efeito foi utilizado a contagem em placa de Petri e posteriormente o método da microplaca com leitura de absorvância em espectrofotómetro. As referidas culturas foram isoladas de leite e queijos da Beira Baixa, em...
Editor	IPCB. ESA
Palavras Chave	Staphylococcus coagulase-positiva, pH, Temperatura, NaCl, Segurança alimentar
Tipo	report
Revisão de Pares	Não
Coleções	ESACB - Nutrição Humana e Qualidade Alimentar

Esta página foi gerada automaticamente em 2024-05-05T02:55:52Z com informação proveniente do Repositório



Sobrevivência de *Staphylococcus* coagulase-positiva em diferentes condições de temperatura, NaCl e pH

Alexandra Isabel Adolfo Pereira

Orientadores:

Doutora Maria Cristina Canavarro
Doutora Cristina Maria Santos Pintado

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciada em Nutrição Humana e Qualidade Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Cristina Maria Santos Pintado e da Doutora Maria Cristina Canavarro Teixeira, Professores Adjuntos da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

novembro 2013

Agradecimentos

Começo por agradecer à minha mãe e irmãs por todo o carinho, apoio, ajuda e incentivo, pois sem vocês nada disto seria possível.

A todo o pessoal do Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária, por se terem mostrado sempre disponíveis para ajudar, pela simpatia e conhecimentos transmitidos.

À Dr.^a Cristina Maria Santos Pintado e à Dr.^a Maria Cristina Canavarro Teixeira, que me orientaram, pela ajuda, acompanhamento e disponibilidade que me prestaram sempre.

A todos que de certa forma me acompanharam e contribuíram para que chegasse ao fim desta etapa.

Muito Obrigada!

Resumo

O presente trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária de Castelo Branco, visa estudar a sobrevivência de oito culturas de *Staphylococcus* perante diferentes condições de temperatura, pH e NaCl durante um período de incubação de 20 dias. Para este efeito foi utilizado a contagem em placa de Petri e posteriormente o método da microplaca com leitura de absorvância em espectrofotómetro.

As referidas culturas foram isoladas de leite e queijos da Beira Baixa, em diferentes fases de maturação.

Com os resultados obtidos nas contagens em placa de Petri, pode verificar-se que, no geral, o microrganismo multiplicou-se mais favoravelmente a temperaturas de 22°C, atingindo valores na ordem de 10^{10} UFC/ml.

Relativamente aos ensaios feitos em microplaca, podemos afirmar que para pH mais elevado, entre 6 e 7, todas as culturas estudadas multiplicaram-se de forma significativa nas diferentes temperaturas de incubação de 12°C, 18°C e 30°C. No entanto, apenas a pH mais baixos se verificou multiplicação a 30°C. Em relação ao fator NaCl, quanto mais elevada for a sua concentração, maior é a sua inibição provocada sobre o desenvolvimento de *Staphylococcus*.

O modelo de regressão logística revelou ser significativo para combinação dos fatores pH e NaCl que permitiram a multiplicação das culturas ATCC e 106 de *Staphylococcus* a pH de 6 e 7, com uma diminuição gradual à medida que aumenta os valores de NaCl aplicados. Já para pH de 4 e 5 a multiplicação das culturas foi nula independentemente da percentagem de NaCl.

Palavras chave

Staphylococcus coagulase-positiva, pH, temperatura, NaCl, segurança alimentar

Abstract

This work performed at the Laboratory of Microbiology, Escola Superior Agrária of Castelo Branco , aims to study the survival of eight cultures of *Staphylococcus* face different conditions of temperature , pH and NaCl during an incubation period of 20 days. For this purpose we used the plate count and subsequently the method of the microplate spectrophotometer absorbance reading .

These cultures were isolated from milk and cheese from Beira Baixa , in different stages of maturation.

With the results in the plate counts, it can be seen that , in general, the organism multiplied more favorably at temperatures of 22°C , reaching values in the order of 10^{10} CFU / ml .

For tests performed in microplates, we can say that for higher pH between 6 and 7, all cultures studied multiplied significantly in the different incubation temperatures of 12°C, 18°C and 30°C. However, only low pH multiplication occurred at 30°C. Regarding factor NaCl , the higher the concentration , the greater is its caused on the development inhibition of *Staphylococcus* .

The logistic regression model was shown to be significant factors for the combination of pH and NaCl which allowed the multiplication of cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC and 106, at pH 6 and 7, with a gradual decrease as increasing values of NaCl applied . As to pH 4 and 5 multiplication of cultures was null independently of the percentage of NaCl.

Keywords

Staphylococcus aureus, pH, temperature, NaCl, food safety

Índice geral

Resumo	iii
I. Introdução	1
II. Revisão Bibliográfica	2
1. <i>Staphylococcus aureus</i> e outros <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva.....	2
2. Classificação e métodos de tipagem.....	2
3. Aspectos ecológicos do <i>Staphylococcus</i> no Homem.....	3
4. Fatores de virulência – Toxinas.....	3
5. Incidência nos alimentos e ambiente.....	4
6. Fatores ambientais que afetam a sobrevivência.	5
6.1. Temperatura	5
6.2. pH	5
6.3. NaCl	6
7. Fatores que influenciam a multiplicação de <i>Staphylococcus aureus</i> durante a maturação no queijo.	6
7.1. Temperatura	7
7.2. pH	7
7.3. NaCl	7
8. Influência do ácido láctico, ácido acético e ácido cítrico.	7
III. Material e Métodos	8
1. Preparação dos meios de cultura	8
2. Culturas usadas nos ensaios	9
2.1. Origem das culturas	9
2.2. Confirmação da coagulase em meio Baird-Parker com RPF Agár	9
2.3. Teste Prolex™ Staph Látex Kit	10
3. Preparação do inóculo em meio BHI.....	10
4. Avaliação do efeito combinado da temperatura, pH e NaCl numa cultura de <i>Staphylococcus</i> ref ^a 106, usando o método da contagem em placa.....	12
5. Avaliação do efeito combinado entre diferentes concentrações de NaCl, pH e diferentes temperaturas sobre culturas de <i>Staphylococcus</i>	13
6. Avaliação do efeito de diferentes concentrações de NaCl e de diferentes valores de pH sobre duas culturas de <i>Staphylococcus</i>	15
7. Leitura visual da turvação e em espectrofotômetro	16
8. Confirmação de poços negativos	16
9. Análise estatística.....	18
IV. Resultados e Discussão	17

1. Coloração de gram.....	18
2. Confirmação da coagulase	18
3. Avaliação do efeito combinado da Temperatura, pH e NaCl numa cultura de <i>Staphylococcus</i> ref^a 106, usando o método da contagem em placa	18
3.1. Contagem a 4°C.....	18
3.2. Contagem a 12°C	19
3.3. Contagem a 22°C	20
4. Avaliação do efeito combinado entre diferentes concentrações de NaCl, pH e diferentes temperaturas sobre culturas de <i>Staphylococcus</i>	22
4.1. Leitura às 48h a 30°C.....	22
4.2. Leitura aos 5 dias a 30°C.....	23
4.3. Leitura aos 7 dias a 30°C.....	24
4.4. Leitura aos 5 dias a 12°C.....	25
4.5. Leitura aos 7 dias a 12°C.....	26
4.6. Leitura aos 15 dias a 12°C.....	26
4.7. Leitura aos 6 dias a 18°C.....	27
4.8. Leitura aos 7 dias a 18°C.....	28
5. Regressão Logística - Avaliação do efeito de diferentes concentrações de NaCl e de diferentes valores de pH sobre duas culturas de <i>Staphylococcus</i>	29
V. Conclusão	31
IV. Referências Bibliográficas.....	34
Apêndices	

Índice de figuras

Figura 1- Culturas de <i>Staphylococcus aureus</i> inoculadas em meio de cultura Baird-Parker Agar com RPF	10
Figura 2- Esquema da preparação e confirmação do inóculo para a cultura 106	11
Figura 3- Preparação das diluições e inoculação em placa	13
Figura 4- Contagem do inóculo das culturas de <i>Staphylococcus</i>	14
Figura 5- Microplaca com diferentes valores de NaCl incubada a temperaturas de 12°C, 18°C e 30°C.....	14
Figura 6- Microplaca com diferentes concentrações de pH incubada a temperaturas de 12°C, 18°C e 30°C.....	14
Figura 7- Microplaca da cultura 106 e de referência com diferentes valores de pH e concentrações de NaCl incubada a temperaturas de 18°C	15
Figura 8- Duplicado e triplicado da microplaca da cultura 106 e de referência incubada a temperaturas de 18°C	16
Figura 9- Microplaca da cultura 106 com concentração de NaCl a 0,5% a pH=7	16
Figura 10- <i>Staphylococcus</i> com coloração de gram	17
Figura 11- Identificação de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva em meio Baird-Parker com RPF Agár.....	18
Figura 12- Identificação de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva pelo Teste Prolex™ Staph Látex Kit.....	18
Figura 13- Contagem de <i>Staphylococcus</i> a 4°C e a diferentes condições de pH (5,4; 6; 6,6) e de NaCl (0,19%; 2%; 4%)	19
Figura 14- Contagem de <i>Staphylococcus</i> a 12°C e a diferentes condições de pH (5,4; 6; 6,6) e de NaCl (0,19%; 2%; 4%)	20
Figura 15- Contagem de <i>Staphylococcus</i> a 22°C e a diferentes condições de pH (5,4; 6; 6,6) e de NaCl (0,19%; 2%; 4%)	21
Figura 16- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva com diferentes concentrações de NaCl às 48H a 30°C	22
Figura 17- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva em diferentes níveis de pH às 48H a 30°C.....	23
Figura 18- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 5 dias a 30°C	24
Figura 19- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva com diferentes níveis de pH aos 5 dias a 30°C	24
Figura 20- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 7 dias a 30°C	24
Figura 21- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus coagulase-</i> positiva com diferentes níveis de pH aos 7 dias a 30°C	25

Figura 22- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 5 dias a 12°C	15
Figura 23- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes níveis de pH aos 5 dias a 12°C	26
Figura 24- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 7 dias a 12°C	26
Figura 25- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes níveis de pH aos 7 dias a 12°C	26
Figura 26- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 15 dias a 12°C.....	27
Figura 27- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes níveis de pH aos 15 dias a 12°C	27
Figura 28- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 6 dias a 18°C	28
Figura 29- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes níveis de pH aos 6 dias a 18°C	28
Figura 30- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes concentrações de NaCl aos 7 dias a 18°C	20
Figura 31- Leitura da absorvância em microplaca de <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva com diferentes níveis de pH aos 7 dias a 18°C	29
Figura 32- Multiplicação da cultura de referência de <i>Staphylococcus</i> em função do pH e NaCl.....	29
Figura 33- Multiplicação da cultura 106 de <i>Staphylococcus</i> em função do pH e NaCl.....	30

Lista de tabelas

Tabela 1 - Caracterização de culturas de <i>Staphylococcus</i> usadas	9
Tabela 2 - Valores de temperatura, NaCl e pH para contagem em placa de <i>Staphylococcus</i>	12