

## ISOLAMENTO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLÔNIAS DE *ESCHERICHIA COLI* EM AMOSTRAS DE LIMÃO E CÉDULAS DE DOIS REAIS

Rainer José Baldoíno da SILVA<sup>1</sup>  
Carlos Eduardo Maia de OLIVEIRA<sup>2</sup>

### RESUMO

Com o objetivo de isolar Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Escherichia coli* – principal espécie bacteriana pertencente ao grupo dos coliformes fecais - em superfície de amostras de limão não higienizados, higienizados com água e sabão, com vinagre diluído em água e com hipoclorito de sódio a dez por cento (10%), após prévia refrigeração por duas horas e em superfície de cédulas de dois reais, utilizou-se ágar seletivo eosina-azul de metileno (EAM) e provas bioquímicas – padrão para isolamento de *E. coli*. Os resultados demonstraram uma frequência menor de isolamento de UFC de *E. coli* nas amostras de limão higienizadas com hipoclorito de sódio a 10%, comparado com as outras técnicas de higienização e também uma frequência menor de UFC desta espécie bacteriana na superfície de cédulas de dois reais comparado ao isolamento na superfície de amostras de limões não-higienizados.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Coliformes fecais. Superfícies de limão. Cédulas de dinheiro

### 1 INTRODUÇÃO

As bactérias pertencentes à espécie *Escherichia coli* enquadram-se na família Enterobacteriaceae e são bacilos, anaeróbios facultativos e gram-negativos. Colonizam o intestino dos seres humanos e animais endotérmicos. As cepas de *E. coli* que colonizam a mucosa intestinal humana integram a microbiota normal do organismo e raramente ocasionam doenças, exceto nos casos de comprometimento da resistência imunológica. No entanto, algumas são relacionadas às intoxicações alimentares e processos infecciosos, sendo uma das principais bactérias relacionadas às infecções hospitalares. Responsável por mais de 80% de todas as infecções do trato urinário (UTI), é causa proeminente de gastroenterite nos países em desenvolvimento e é o bacilo gram-negativo mais comumente isolado em pacientes com sepse (MIMS et al., 1999; NOGUERAS et al., 2001; DUARTE; MARCOLIN; GONÇALVES, 2002, MURRAY et al., 2004).

A *E. coli* constitui-se em um dos principais agentes etiológicos de diarreia infantil, especialmente o sorogrupo *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC), sendo a

---

<sup>1</sup> Graduado em Odontologia – Universidade Camilo Castelo Branco, Campus Fernandópolis – SP (Instituição na qual o trabalho foi desenvolvido), pretinhobaldo@hotmail.com

<sup>2</sup> Professor Mestre em Microbiologia e Doutor em Geologia Regional Universidade Camilo Castelo Branco (Instituição na qual o trabalho foi desenvolvido) Professor EBTT de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus de Votuporanga – SP, edumaioli@yahoo.com.br

principal causa de morte entre as crianças menores de cinco anos nas populações de baixa renda dos países em desenvolvimento (FAGUNDES-NETO; SCALESTY, 2000; MEDEIROS et al., 2001; SOUZA et al., 2002, TRABULSI; ALTERTHUM; CANDEIAS, 2002).

O gênero *Escherichia* sp. compreende as espécies *Escherichia coli*, *Escherichia blattae*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii* e *Escherichia vulneris*. Entretanto, a espécie de maior importância prática é a *Escherichia coli*, segundo Trabulsi, Alterthum e Candeias (2002), sendo o micro-organismo tomado como parâmetro na verificação da potabilidade das águas de abastecimento público, pois é abundante nas fezes, cresce facilmente em meios de cultura e sobrevive por bastante tempo na água. A grande quantidade desta bactéria é indicativa da presença de outros micro-organismos e agentes patogênicos, tais como: *Salmonella typhi* (agente etiológico da febre tifoide), *Shigella* sp. (agente etiológico da shigelose), vírus da hepatite A, o rotavírus, poliovírus, entre outros; também é o micro-organismo mais frequente dentre os coliformes fecais (SILVA FILHO; OLIVEIRA, 2004).

Esta bactéria cresce no meio de cultura ágar EAM (Eosina Azul de Metileno), fermenta lactose e manitol com produção de ácido e gás e produz indol a partir do aminoácido triptofano (FURLANETTO; LACERDA; CERQUEIRA-CAMPOS, 1982; SILVA et al., 2006).

O meio de cultura EAM foi originalmente desenvolvido por Levine e é usado na diferenciação de *E.coli* e *Enterobacter aerogenes* e é recomendado pela Associação Americana de Saúde Pública para a detecção, contagem e diferenciação de coliformes fecais (BIER, 1985).

No ágar EAM, as colônias de *E.coli* apresentam-se com 2 a 3 mm de diâmetro, com brilho metálico verde à luz refletida, com centro escuro a negro, podendo apresentar também coloração rósea ou acinzentada (SILVA, 1999).

As colônias de *E. aerogenes* apresentam-se em tamanho maior, com 4 a 6 mm de diâmetro, achatadas e mucoides, o brilho metálico usualmente está ausente e a cor é rósea brilhante. Às vezes também aparecem colônias de *Klebsiella* sp., que são semelhantes às de *Enterobacter* sp., porém mais secas. Colônias pequenas, acinzentadas e planas são de enterobactérias não - coliformes (lactose negativas), geralmente *Salmonella* sp., *Shigella* sp. e *Proteus* sp (JAWETZ; MELINCK; ADELBERG, 2000).

Como já referido, a presença de *E. coli* serve como evidência de contaminação fecal, por isso, a técnica de isolamento desta bactéria também é muito utilizada em pesquisas na área de Microbiologia de Alimentos, isso significa que, quando bactérias da espécie *E. coli* estão presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de

contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração do alimento, além de indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento do alimento (FRANCO, LANDGRAF, 2008).

Com base neste pressuposto, o limão foi escolhido como objeto de estudo do presente trabalho, pois é um fruto muito utilizado na culinária tradicional, principalmente para temperar carnes e saladas, além da preparação de sucos.

Algumas pesquisas na área de Microbiologia de Alimentos concluíram que fatias de limão abrigam bactérias da espécie *Escherichia coli* na superfície e estas bactérias podem ser impelidas para o interior do fruto quando este é lavado de forma incorreta, ocasionando, portanto, o fenômeno conhecido como *UP TAKE*. Loving e Perz (2007) coletaram limões (76 unidades) em 21 restaurantes de New Jersey (EUA) com a finalidade de isolar microorganismos na superfície não higienizada destes frutos. Em 53 unidades (69,7%), houve isolamento de unidades formadoras de colônias de 25 espécies diferentes de microorganismos, dentre estes, coliformes fecais, com destaque para a espécie *E. coli*.

Portanto, o isolamento de bactérias *E. coli* em superfícies de fatias de limão utilizados em bebidas em geral e em temperos se faz importante para conscientizar a população quanto à possível contaminação deste fruto. Espera-se o isolamento desta espécie de bactéria também na superfície do dinheiro, em especial de notas de baixo valor, pois apresentam maior circulação, como acontece, atualmente, com a nota de R\$ 2,00 (dois reais).

Baseado nesta premissa, o presente trabalho apresenta os seguintes objetivos: isolar e identificar unidades formadoras de colônias (UFC) de bactérias da espécie *Escherichia coli* em superfície de amostras de limão não higienizadas e em cédulas de R\$ 2,00 (dois reais), comparar os resultados com relação à positividade de UFC de *E. coli* isoladas na superfície de amostras de limão não higienizadas e na superfície de cédulas de R 2,00 (dois reais), isolar e identificar UFC de bactérias *E. coli* em superfície de amostras de limão lavadas de forma convencional (com bucha, água e sabão), em superfície de amostras de limão higienizadas com vinagre diluído em água, em superfície de amostras de limão higienizadas, após prévia refrigeração de duas horas, e em solução de hipoclorito de sódio a 10% (água sanitária) e verificar o melhor método de higienização de limões.

## 2 METODOLOGIA

As amostras de limão foram obtidas, aleatoriamente, em três supermercados e duas quitandas com grande movimento de consumidores na cidade de Fernandópolis-SP, sendo

coletado um total de sessenta (60) amostras nestes estabelecimentos, tomando-se o cuidado de se recolher a mesma quantidade em cada estabelecimento, ou seja, 12 (doze) unidades. Já com relação às cédulas de dois reais (R\$ 2,00), estas foram obtidas através de empréstimo, sessenta (60) unidades, provenientes de sessenta (60) voluntários diferentes, dando-se preferência para as cédulas mais antigas e avariadas por terem circulado mais até o momento da coleta.

Após a coleta da sujidade, presente na superfície das amostras de limões e nas cédulas de R\$2,00 (dois reais), ela foi submetida ao processamento microbiológico padrão para isolamento de unidades formadoras de colônia (UFC) de *E. coli*.

### **Reagentes e meio de cultura**

#### **Reagentes**

VM – VP / Vermelho de metila - Voges Proskauer – marca Difco

Dextrose .....	5,0 g
Fosfato dibásico de potássio .....	5,0 g
Peptona de carne .....	3,5 g
Peptona de caseína .....	3,5 g
Água destilada q.s.p. ....	1000,0 mL
pH final: 6,9 ± 0,2 a 25°C	

Dissolver 17 gramas em um litro de água destilada. Aquecer ligeiramente, se necessário. Distribuir 5 mL por tubo 15X125 mm. Esterilizar a 121°C por 20 minutos. Se não for usado no mesmo dia, armazenar a uma temperatura que poderá variar de 2 a 8°C. O meio preparado possui validade de quatro semanas.

#### Solução 5% de alfa-naftol

Alfa – naftol .....	5,0 g
Etanol absoluto q.s.p. ....	100,0 mL

Dissolver o alfa-naftol em menos de 100 mL de etanol, transferir para um balão volumétrico e acidificar o etanol restante, completando o volume para 100 mL. Estocar em geladeira e ter o cuidado de não pipetar o reagente com a boca. O correto é utilizar uma pera ou pipetador neste procedimento.

#### Solução 40% de hidróxido de potássio

KOH .....	40,0 g
Água destilada q.s.p. ....	100,0 mL

Pesar o KOH rapidamente (é altamente higroscópico) e dissolver em menos de 100 mL de água destilada em um béquer colocado em banho de água fria para controlar a elevação da temperatura durante a dissolução. Aguardar o resfriamento e completar o volume para 100 mL com água destilada. Estocar sob refrigeração, em frasco de polietileno ou em frasco de vidro com a boca e a tampa parafinadas. A solução é extremamente cáustica, podendo causar queimaduras na pele. Manusear com cuidado e, em caso de acidente, lavar com água em abundância.

#### Solução Vermelho de metila

Vermelho de metila .....	0,02 g
Etanol 95% .....	60,0 mL
Água destilada q.s.p. ....	100,0 mL

Dissolver vermelho de metila nos 60,0 mL de etanol e completar o volume para 100,0 mL com água destilada. Estocar em frasco escuro, sob refrigeração.

### Meios de Cultura

#### Infusão de Cérebro Coração – Brain Heart Infusion (BHI) – marca Difco

Cloreto de sódio .....	5,0 g
Dextrose .....	2,0 g
Fosfato bibásico de sódio .....	2,5 g
Infuso de cérebro e coração .....	17,5 g
Peptona de carne .....	5,0 g
Peptona de caseína .....	5,0 g
Água destilada q.s.p. ....	1000,0 mL
pH final: $7,4 \pm 0,2$ a $25^{\circ}\text{C}$	

Suspender 37 gramas em um litro de água destilada. Aquecer ligeiramente para facilitar a dissolução dos ingredientes. Distribuir 0,5 mL em tubos de cultura 15X125 mm embuchados com algodão; esterilizar a 121°C por 20 minutos. O armazenamento do meio deve ser realizado a uma temperatura que poderá variar de 2 a 8°C. O meio preparado possui validade de seis meses.

#### Ágar EAM (Eosina Azul de Metileno) – BEM Agar/Difco

Ágar bacteriológico .....	13,5 g
Azul de Metileno .....	0,065 g
Eosina .....	0,4 g
Fosfato dibásico de potássio .....	2,0 g
Lactose .....	5,0 g
Peptona de gelatina .....	10,0 g
Sacarose 5 .....	0 g
Água destilada q.s.p. ....	1000,0 mL
pH final: 7,2 ± 0,2 a 25°C.	

Suspender 36 gramas em um litro de água destilada. Hidratar por 10 a 15 minutos. Aquecer agitando frequentemente e ferver por um minuto. Esterilizar a 121°C por 20 minutos. Esfriar até 45 a 50°C. Distribuir, agitando suave e frequentemente, distribuir de 15 a 20 mL por placa de Petri 15 X 10 mm estéril, evitando formação de bolhas. Logo após a solidificação, inverter as placas. Se não for usado no mesmo dia, armazenar à temperatura que poderá variar de 2 a 8°C com as placas de Petri em posição invertida. O meio preparado possui validade de quatro semanas.

#### Ágar PCA (Ágar padrão para contagem)

Ágar bacteriológico .....	17,0 g
Amido de batata .....	1,5 g
Extrato de carne .....	2,0 g
Hidrolisado ácido de caseína .....	17,5 g
Água destilada q.s.p. ....	1000,0 mL
pH final: 7,4 ± 0,2 a 25°C	

Suspender 38 gramas em um litro de água destilada. Aquecer agitando frequentemente e ferver por 1 minuto. Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos e distribuir 25mL por placa de Petri 15X100mm estéril. Se não for usar no mesmo dia, armazenar o meio à temperatura de 2 a 8°C. O meio preparado possui validade de uma semana.

## Simmons Citrato Ágar

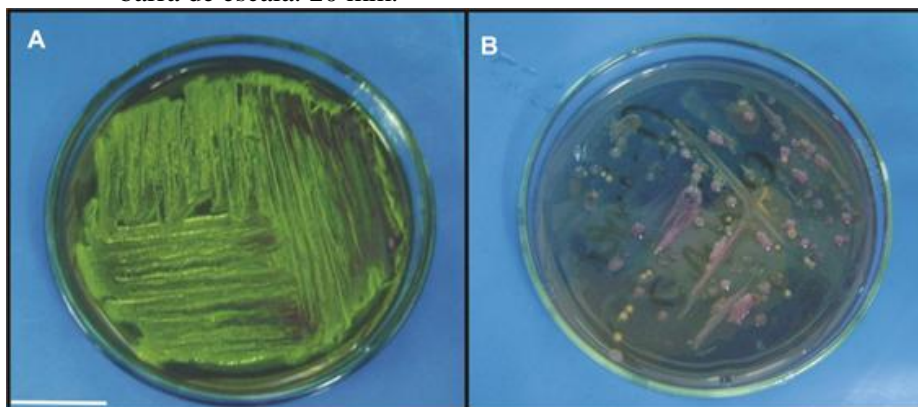
Ágar bacteriológica .....	15,0 g
Azul de bromotimol .....	0,08 g
Citrato de sódio .....	2,0 g
Cloreto de sódio .....	5,0 g
Fosfato bibásico de potássio .....	1,0 g
Fosfato monobásico de amônio .....	1,0 g
Sulfato de magnésio .....	0,2 g
Água destilada q.s.p. ....	1000,0 mL
pH final: 6,9 ± 0,2 a 25°C	

Suspender 24,2 gramas em um litro de água destilada. Hidratar por 10 a 15 minutos. Aquecer agitando frequentemente e ferver por 1 minuto. Distribuir 5mL em tubos 15X125mm. Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos e esfriar em posição inclinada. Se o meio de cultura não for utilizado no mesmo dia, poderá ser armazenado à temperatura de 2 a 8°C. O meio preparado possui validade de quatro semanas.

A sujidade presente na superfície das amostras de limões e nas cédulas foi coletada utilizando-se *swabs* estéreis. Imediatamente após a coleta, os *swabs* foram depositados em tubos de ensaio contendo 0,5 mL de meio de cultura BHI (Infusão Cérebro – Coração), estéril e incubados por duas horas em estufa a 35°C. Passado este tempo, procedeu-se à semeadura das amostras em placas de Petri contendo meio seletivo para *E. coli* – ágar EAM (Eosina Azul de Metileno).

As placas foram incubadas em posição invertida por 48 horas a 35°C. Uma vez isoladas, as colônias típicas de *E.coli* (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico esverdeado, podendo apresentar também coloração rósea ou acinzentada - Figura 1), foram transferidas para tubos inclinados contendo o ágar PCA (Ágar padrão para contagem) e incubadas por 24 horas a 35°C. Após este procedimento, foram selecionadas colônias para a realização dos testes bioquímicos.

Figura 1 - Imagens revelando aspectos típicos de UFC de *E. coli* (A: colônias com brilho verde metálico e B: colônias com coloração rósea) – barra de escala: 20 mm.



Fonte: Silva e Amstalden, 1997.

### Testes Bioquímicos

Amostras com características típicas de UFC de *E. coli* foram selecionadas para realização do teste bioquímico envolvendo o ágar Citrato de Simmons que avalia a habilidade da bactéria em utilizar citrato de sódio como única fonte de carbono. Foi realizada a inoculação das amostras deslizando, levemente, a agulha bacteriológica em linha reta pelo centro da superfície do meio de cultura contido em tubos. As amostras foram incubadas por 24 horas a 35°C. O crescimento com viragem alcalina, alterando a cor do meio esverdeado para azulado é indicativo de resultado positivo; o não crescimento e consequente não alteração de cor do meio indicam resultado negativo.

Amostras foram selecionadas para realização do teste bioquímico de vermelho de metila (VM) que avalia a capacidade da bactéria de produzir ácido pirúvico a partir da glicose. Foi realizada a inoculação das amostras em tubos contendo caldo VM-VP (Vermelho de Metila – Voges Proskauer) e incubação por 48 horas a 35°C. Após este procedimento inicial, foram adicionadas, em cada tubo, seis gotas da solução vermelho de metila, observando imediatamente se o meio adquiriu uma coloração avermelhada, o que indica resultado positivo, ou amarelada, que indica resultado negativo.

Amostras foram selecionadas para a realização do teste bioquímico de Voges – Proskauer (VP) que avalia a capacidade da bactéria de produzir acetoina a partir da glicose. Foi realizada a inoculação das amostras em tubos contendo caldo VM-VP (Vermelho de Metila – Voges Proskauer) e incubação a 35°C por 48 horas. Após este procedimento inicial, foram adicionadas, em cada tubo, seis gotas da solução de alfa-naftol a 5%, os quais serão

posteriormente agitados e aquecidos na chama do bico de Bunsen até atingir a fervura. Durante a realização deste procedimento, foi observado o desenvolvimento de uma coloração avermelhada ou rósea na solução, o que indica resultado positivo; a permanência do meio na coloração do reagente (amarelada ou ligeiramente esverdeada) indica resultado negativo.

Após a realização dos referidos testes bioquímicos, foram consideradas colônias de *Escherichia coli* as amostras que apresentaram resultados positivos no teste de vermelho de metila e negativos nos testes do ágar Citrato de Simmons e Voges-Proskauer (figura 2).

Figura 2 - Imagem do teste bioquímico – padrão em isolamentos de *Escherichia coli*.

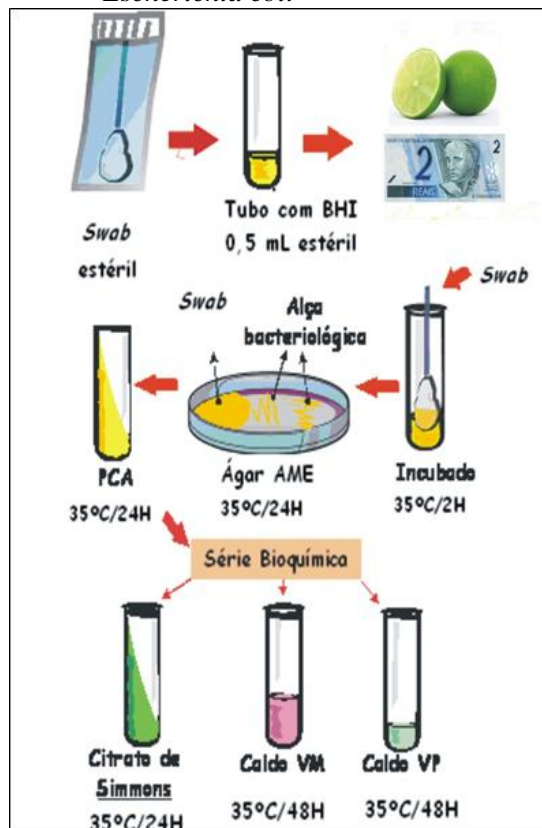


Fonte: FURLANETTO; LACERDA; CERQUEIRA-CAMPOS, 1982

A coloração de Gram revelou aspecto típico de bacilos gram-negativos.

O processamento das amostras e os testes bioquímicos e bacterioscópicos (coloração de Gram) estão ilustrados na Figura 3.

Figura 3 - Fluxograma ilustrando o protocolo de isolamento de (UFC) de bactérias *Escherichia coli*



Fonte: Dos próprios dos autores.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, observa-se a frequência de *Escherichia coli* em amostras de limão que não foram higienizadas. De sessenta (60) amostras, em cinquenta e seis (56) unidades, ou seja, 93,3% do total foram isoladas UFC de *E. coli*. Este resultado revela que existia uma grande quantidade destas bactérias na casca do limão não higienizado proveniente das amostras do presente trabalho.

Tabela 1 - Frequência de bactérias *Escherichia coli* em amostra de limão não higienizadas.

Amostras de limão	Positivo para <i>Escherichia coli</i>
60 unidades	56 unidades
100% das unidades	93,3%

Fonte: Dos próprios dos autores.

Na tabela 2, observa-se frequência de bactérias *Escherichia coli* em amostras de limão previamente higienizadas com bucha, água e sabão. De sessenta (60) unidades analisadas, em dezesseis (16) foram isoladas

UFC de *E. coli*, ou seja, (26,6%) do total. Este resultado revela que esta forma de higienização de limões não apresenta resultados satisfatórios.

Tabela 2 - Frequência de bactéria *Escherichia coli* em amostras de limão previamente higienizadas com bucha, água e sabão.

<b>Amostra de limão</b>	<b>Positividade para <i>Escherichia coli</i></b>
60 unidades	16 unidades
100%	26,6%

Fonte: Dos próprios dos autores.

Na tabela 3, observa-se a frequência de amostra de bactéria *Escherichia coli* em amostras de limão previamente higienizadas com vinagre diluído em água (uma colher de sopa para cada litro de água). De sessenta (60) unidades analisadas, em cinquenta e uma (51) foram isoladas UFC de *E. coli*, ou seja, (85%) do total. Este resultado revela que este método de higienização de limões, muito utilizado pela população, é totalmente inócuo, haja vista a grande porcentagem de *E. coli* isolada após a realização desta técnica de limpeza de limão.

Tabela 3 - Frequência de amostra de bactéria *Escherichia coli* em amostras de limão previamente higienizadas com vinagre diluído em água.

<b>Amostra de limão</b>	<b>Positividade para <i>Escherichia coli</i></b>
60 unidades	51 unidades
100% das unidades	85%

Fonte: Dos próprios dos autores.

Na tabela 4, observa-se a frequência de bactérias *Escherichia coli* em amostras de limão higienizadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 10% (água sanitária), após prévia refrigeração de duas horas. De sessenta (60) unidades analisadas, em apenas uma (1) foi isolada UFC de *E. coli*, ou seja, 1,6% das amostras apresentou positividade para *E. coli*. Este resultado revela que o melhor método para se higienizar limão é a utilização de água sanitária diluída (na proporção aproximada de uma colher de sopa de água sanitária para cada litro de água), deixando as amostras de limão repousando na referida solução por 15 minutos.

Tabela 4 - Frequência de bactérias *Escherichia coli* em amostras de limão higienizadas em uma solução de hipoclorito de sódio a 10% (água sanitária), após prévia refrigeração de duas horas.

<b>Amostra de limão</b>	<b>Positividade para <i>Escherichia coli</i></b>
60 unidades	1 unidade
100% das unidades	1,60%

Fonte: Dos próprios dos autores.

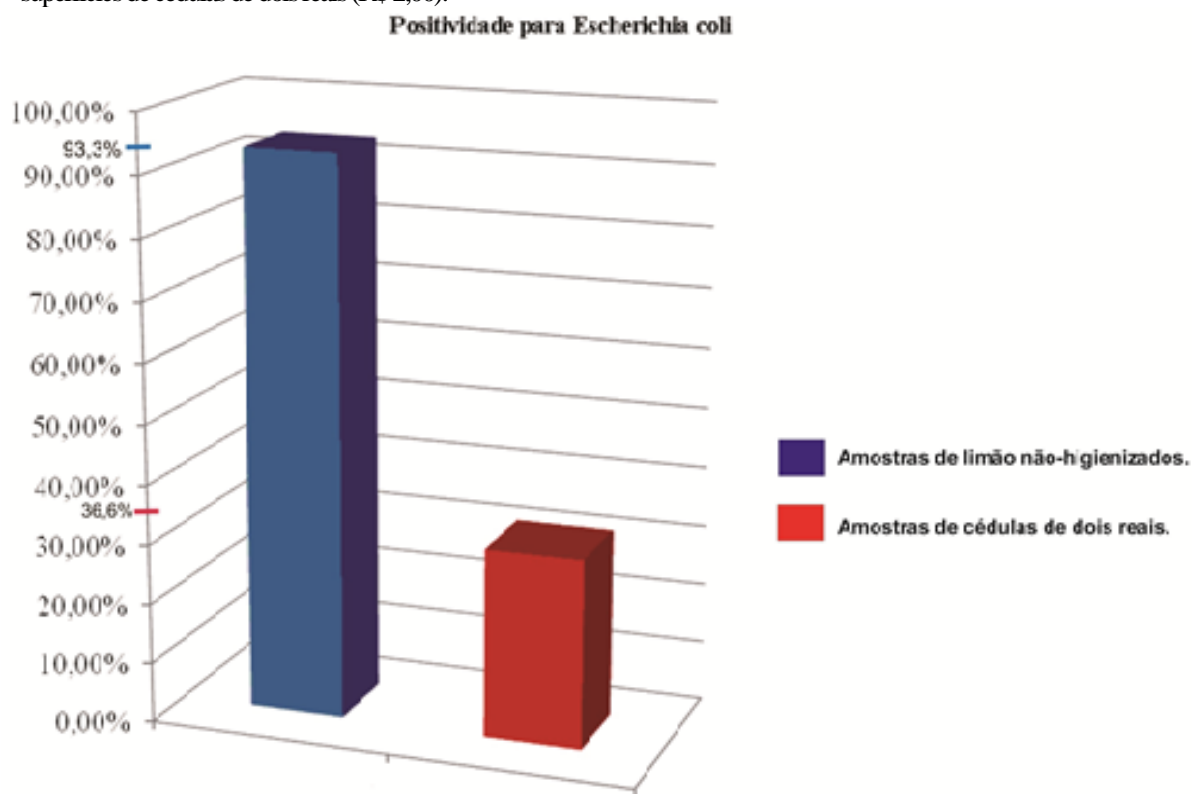
Na tabela 5, observa-se a frequência de *Escherichia coli* em amostras de cédulas de dois reais (R\$ 2,00 reais). Foram analisadas sessenta (60) unidades obtidas de sessenta voluntários diferentes e apresentando graus variados de conservação. De sessenta (60) unidades, em dezenove (19) foram isoladas UFC de *E. coli*, ou seja, (31,6%) do total das amostras. Este resultado evidencia que foram isoladas mais unidades formadoras de colônias (UFC) de *Escherichia coli* em superfícies de limão não-higienizados (56 unidades em 60 analisadas – 93,3%) do que na cédula de maior circulação atualmente – a nota de dois reais. O gráfico 1 ilustra esta comparação.

Tabela 5 - Frequência de bactéria *Escherichia coli* em amostra de cédulas de dois reais (R\$2,00 reais).

Numero de cédulas de R\$ 2,00 (dois reais)	Positividade para <i>Escherichia coli</i>
60 unidades	19 unidades
100% das unidades	31,60%

Fonte: Dos próprios dos autores.

Gráfico 1 - Frequência de unidades formadoras de colônia de *Escherichia coli* em superfícies de limão não – higienizados e em superfícies de cédulas de dois reais (R\$ 2,00).



Fonte: Dos próprios dos autores.

Portanto, como revelam os resultados das tabelas 1 e 5 e também do gráfico 1, as superfícies das cédulas de maior circulação no país (R\$2,00) apresentaram uma porcentagem

menor de unidades contaminadas quando comparadas com as superfícies de limões não-higienizados. É importante ressaltar, como já mencionado, que o limão é um fruto amplamente utilizado na culinária brasileira e que, mesmo que a cepa de *Escherichia coli* que esteja contaminando uma determinada amostra de limões não seja patogênica, a bactéria em estudo é bioindicadora de contaminação fecal e, por isso, o alimento onde se isolam bactérias da espécie estudada pode também apresentar outros micro-organismos, agentes patogênicos e até mesmo ovos de helmintos e agentes etiológicos de importantes doenças, como hepatite A, rotavirose, amebíase, salmonelose, shigelose, ascaridíase, ancilostomose, dentre outras.

#### 4 CONCLUSÃO

Métodos tradicionais de higienização de limões, como a utilização de vinagre diluído em água ou a lavagem com bucha, água e sabão não são eficientes para eliminar *Escherichia coli* de suas superfícies.

Dos métodos de higienização pesquisados, o que apresentou melhor resultado foi a higienização de limão utilizando solução de hipoclorito de sódio a 10% (água sanitária), após prévia refrigeração de duas horas.

A superfície do limão não higienizada apresentou altos níveis de contaminação por *Escherichia coli*.

A superfície de limão não higienizada apresenta um nível maior de contaminação por *Escherichia coli* do que a superfície de cédulas de R\$2,00 (dois reais).

O presente trabalho ratifica alguns resultados obtidos na pesquisa desenvolvida por Loving e Perz (2007), onde foram isoladas UFC de vários micro-organismos, dentre eles a bactéria *Escherichia coli*, em superfícies de limões.

Portanto, recomenda-se higienizar os limões, comprados em feiras, quitandas e supermercados, para eliminar corretamente de suas superfícies o principal coliforme fecal – a bactéria da espécie *Escherichia coli* que frequentemente contamina este fruto. A higienização mais adequada, de acordo com os resultados deste trabalho, consiste em deixar limões repousando em um recipiente contendo, para cada litro de água, uma colher de sopa de hipoclorito de sódio a 10% (água sanitária) e, para se evitar o fenômeno do *Up-take* (absorção, para o interior do fruto, de toda sujidade presente na casca de limão), recomenda-se deixar estes frutos em refrigeração prévia por duas horas, antes de qualquer higienização.

## ISOLATION OF COLONY FORMING UNITS OF ESCHERICHIA COLI IN SAMPLES OF LEMON SLICES TWO REAL BANKNOTES

### ABSTRACT

Aiming to isolate Colony Forming Units (CFU) of *Escherichia coli* - main bacterial species belonging to the group of fecal coliform - in surface samples of lemon not sanitized, cleaned with soap and water, with vinegar diluted in water and hypochlorite sodium to ten percent (10%), after previous cooling for two hours, and in surface two real banknotes, we used selective agar EAM and biochemical evidence - standard for isolation of *E. coli*. The results showed a lower frequency of isolation of CFU of *E. coli* in samples lemon sanitized with sodium hypochlorite to 10%, compared with other cleaning techniques, and also a lower frequency of CFU of this bacterial species at the surface of two real banknotes compared to the actual insulation on the surface of samples of non-sanitized lemons.

Keywords: *Escherichia coli*. Fecal coliforms. Lemon surfaces. Two real banknotes.

### REFERÊNCIAS

- BIER, O. **Microbiologia e imunologia**. 24.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1985.
- DUARTE, G.; MARCOLIN, A. C; GONÇALVES, C. V. Infecção urinária na gravidez: análise dos métodos para diagnóstico e do tratamento. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 7, p.471-77, 2002.
- FAGUNDES-NETO, U.; SCALESTY, I. C. A. The gut at war: the consequences of enteropathogenic *Escherichia coli* infection as a factor of diarrhea and malnutrition. **São Paulo Medical Journal**, São Paulo, v.118, n.1, p. 21-9, 2000.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.
- FURLANETTO, S. M. P; LACERDA, A. A.; CERQUEIRA- CAMPOS, M. L. Pesquisa de alguns microrganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e "rotisseries". **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.16, n. 6, p. 307-16, 1982.
- JAWETZ, E.; MELINCK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia Médica**. 21.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- LOVING, A. L.; PERZ, J. Microbial Flora on Restaurant Beverage Lemon Slices **Journal of Environmental Health**, Denver, v.70, n.5, p. 18-22, 2007.
- MEDEIROS, M. I. C. et al. Etiology of acute diarrhea among children in Ribeirão Preto-SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 43, n.1, p.21-4, 2001.
- MIMS, C. et al. **Microbiologia médica**. 2.ed. São Paulo: Manole Ltda, 1999.
- MURRAY, P. R. et al. **Microbiologia médica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NOGUERAS, M.; MARINSAL, N.; ROUSSELL, M. *et al.* Importância da contaminação das mãos por germes, em trabalhadores da saúde, como possíveis transmissores de infecções hospitalares. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.43, n. 3, p.149-52, 2001.

SILVA, C. H. P. M. **Bacteriologia**: um texto ilustrado. São Paulo: Eventos. 1999.

SILVA FILHO, G. N.; OLIVEIRA, V. L. **Microbiologia**: manual de aulas práticas. Florianópolis: UFSC, 2004.155p.

SILVA, N.; AMSTALDEN, V. C. **Manual de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

SILVA, N. et al. Técnica de isolamento e identificação de *Escherichia coli* em resíduos sólidos. **Universitas**, Fernandópolis – SP, v. 2, p.305-314, 2006.

SOUZA, E. C. et al. Perfil etiológico das diarreias agudas de crianças atendidas em São Paulo. **Journal Pediatrics**, Rio Janeiro, v. 78, n.1, p.31-38, 2002.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 586 p.

Recebido em 12 de janeiro de 2015.

Aceito em 08 de maio de 2015.