



Avaliação do Método MSRV (Draft Annex D/ISO 6579:2002) para detecção de *Salmonella* spp em Farelo de Soja

Celina Mara Soares¹
Ana Lucia Penteado²
Simone Duarte de Oliveira Costa³
Edna Maria Morais Oliveira⁴

Introdução

Os métodos tradicionais de detecção de *Salmonella* em alimentos seguem, de forma geral, quatro etapas básicas: pré-enriquecimento; enriquecimento seletivo; plaqueamento em meios seletivos, isolamento de colônias suspeitas e identificação mediante exames morfológicos, testes bioquímicos e sorológicos.

Embora o emprego de diferentes métodos para a análise de *Salmonella* spp em alimentos seja freqüente, pesquisas envolvendo matrizes vegetais utilizadas na alimentação animal são escassas na literatura (KILLNER, 2008; MACIOROWSKI et al., 2006; RICKE et al., 1998). O Método MSRV constitui um anexo do método ISO 6579 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2002) que pode ser empregado para análise de salmonela neste grupo de alimentos. Neste método, uma etapa de triagem é realizada logo no início da análise, através do uso do Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis

(MSRV). Trata-se de um ágar semi-sólido que permite a detecção dos sorotipos de *Salmonella* dotados de flagelos, que conferem motilidade ao microrganismo, resultando num crescimento característico e de fácil visualização (FRANCHIN, 2008). Cabe informar que a maioria dos sorotipos de *Salmonella* de importância à saúde humana e animal apresenta flagelos em sua constituição, sendo baixa a incidência (<0,1%) de sorotipos imóveis (OGGEL; NUNDY; RANDALL, 1990).

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o desempenho do Método MSRV (Draft Annex D/ISO 6579:2002 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2002)) para detecção de *Salmonella* spp em amostras de farelo de soja inoculadas artificialmente.

Material e Métodos

Dois grupos de amostras de farelo de soja, cada um com 40 unidades de 25 g, previamente testadas

¹ Médica Veterinária, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, celina@ctaa.embrapa.br

² Farmacêutica, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, analucia@ctaa.embrapa.br

³ Engenheira de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, sduarte@ctaa.embrapa.br

⁴ Engenheira Química, D.Sc. em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, edna@ctaa.embrapa.br

e negativas para a presença de salmonela, foram artificialmente inoculados com duas concentrações do microrganismo (10^2 e 10^4 UFC) e analisados quanto à presença de salmonela.

Preparo das suspensões bacterianas

Suspensões de Salmonella Mbandaka, pertencente à coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Microbiologia da Embrapa Agroindústria de Alimentos, foram obtidas após o cultivo em Ágar Trypticase de Soja (TSA) a 37°C por 18-24 h.

Com o auxílio do aparelho Densimat (Biomérieux), as suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina 0,85% e ajustadas conforme a escala MacFarland. Diluições decimais seriadas foram obtidas em água peptonada 0,1% e o número de UFC/ml foi determinado através do plaqueamento pour plate em placas de TSA incubadas a $37^\circ\text{C}/24$ h.

Análise das amostras artificialmente inoculadas

Para a realização das análises através do Método MSRV, foram inoculadas separadamente dois grupos de amostras (25 g/cada) com 1 ml das suspensões de S. Mbandaka nas concentrações de 10^2 e 10^4 UFC/ml, respectivamente. Imediatamente após a inoculação, 225 ml de água peptonada tamponada foram adicionados à amostra, seguida da homogeneização por 2 min. Após a incubação a $37^\circ\text{C}/18$ h, a inoculação da superfície das placas contendo MSRV (Oxoid) foi realizada na forma de gotas (três gotas equidistantes) e, após a secagem do inóculo, as placas foram incubadas a $41,5^\circ\text{C}/24$ h. Após a incubação, as cepas de salmonela formaram zonas de migração circular (10 a 40 mm de raio) na superfície do meio MSRV, caracterizada por uma zona turva esbranquiçada ao redor da gota de inoculação (DE SMEDT et al., 1986).

Colônias presuntivas (Figura 1) foram submetidas a testes seletivos em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Verde Brilhante (BG), incubados a $37^\circ\text{C}/24$ h. As colônias com crescimento característico foram então submetidas aos testes bioquímicos de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Lisina Descarboxilase (LIA), incubados a $37^\circ\text{C}/24$ h. Posteriormente, utilizou-se o kit API 20E (Biomérieux) para confirmação de Salmonella spp.

Simultaneamente à análise das amostras inoculadas, foram realizadas análises de amostras utilizadas como controle negativo (amostras não inoculadas).

Resultados

Todas as amostras inoculadas foram positivas para a detecção de Salmonella spp através do Método

MSRV.

A ausência de Salmonella spp foi verificada em todas as amostras de farelo de soja utilizadas como controle negativo (não inoculadas).

Cabe destacar que, através desta metodologia, a inoculação das amostras em placas contendo MSRV após o pré-enriquecimento em água peptonada tamponada fornece resultados característicos e de fácil visualização para as amostras suspeitas. Estes resultados possibilitam a seleção de isolados presuntivos e o descarte das amostras negativas logo no início da realização da análise de Salmonella spp, resultando em rapidez na análise.

Considerando os resultados obtidos, pôde-se concluir que o Método MSRV (Draft Annex D/ISO 6579:2002) utilizado para a detecção de Salmonella spp é adequado para a análise do microrganismo em farelo de soja.

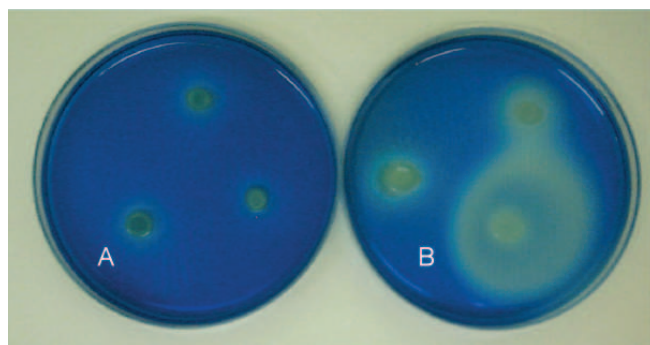


Figura 1 – Placas contendo MSRV utilizadas na análise de Salmonella spp em farelo de soja. A: crescimento não característico (amostra negativa); B: crescimento característico (isolado presuntivo)

Agradecimentos

À FAPERJ (Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) pelo auxílio financeiro.

Referências

DE SMEDT, J. M.; BOLDERDIJK, R. F.; RAPPOLD, H.; LAUTENSCHLAEGER, D. Rapid Salmonella detection in foods by motility enrichment on a modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis Medium. **Journal of Food Protection**, v. 49, n. 7, p. 510-514, 1986.

FRANCHIN, P. R. **Comparação de metodologias alternativas para detecção de Salmonella sp e Listeria monocytogenes em carnes e produtos cárneos**. 2008. 103 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 6579**: detection of Salmonella spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage. Geneva, 2002. 9 p. Amd 1:2007, annex D.

KILLNER, M. **Paralelos entre métodos fenotípicos, imunológicos e genotípicos para a detecção rápida de Salmonella spp em matrizes alimentares sem contaminação experimental**: avaliação em condições reais e simultâneas de uso. 2008. 92 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MACIOROWSKI, K. G.; HERRERA, P.; KUNDINGER, M. M.; RICKE, S. C. Animal feed production and contamination by foodborne Salmonella. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 1, n. 3, p. 197-209, 2006.

OGGEL, J. J.; NUNDY, D. C.; RANDALL, C. J. Modified 1-2 Test system as a rapid screening method for the detection of Salmonella in foods and feeds. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 8, p. 656-658, 1990.

RICKE, S. C.; PILLAI, S. D.; NORTON, R. A.; MACIOROWSKI, K. G.; JONES, F. T. Applicability of rapid methods for detection of Salmonella spp in poultry feeds: a review. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 239-258, dec. 1998.

Comunicado Técnico, 166

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Endereço: Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ

Fone: (0XX21) 3622-9600

Fax: (0XX21) 3622-9713

Home Page: <http://www.ctaa.embrapa.br>

E-mail: sac@ctaa.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2010): tiragem (50 exemplares)

Comitê de publicações

Presidente: *Virginia Martins da Matta*

Membros: *Andre Luis do Nascimento Gomes, Daniela de Grandi Castro Freitas, Luciana Sampaio de Araújo, Marcos Jose de Oliveira Fonseca, Marília Penteado Stephan, Michele Belas Coutinho, Renata Galhardo Borquini, Renata Torrezan*

Expediente

Supervisão editorial: *Renata Galhardo Borquini*

Revisão de texto: *Edson Watanabe*

Normatização bibliográfica: *Luciana S. de Araújo*

Editoração eletrônica: *Marcos Moulin e André Luis do Nascimento Gomes*