

PESQUISA DE *Salmonella* spp. EM QUEIJOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS EM CAMPO GRANDE, MS

Ana Clara Leonardo de Araújo¹, Carlos de Melo Vasque Junior¹

¹Escola Gappe – Campo Grande - MS

cacaia.araujo@gmail.com, profcarlosvasque.10@gmail.com

Área/Subárea: Ciências Biológicas e da Saúde

Tipo de Pesquisa: Científica

Palavras-chave: Salmonelose, saúde pública, produtos artesanais, doenças transmitidas por alimentos.

Introdução

A demanda do consumidor por alimentos orgânicos e naturais está aumentando anualmente (Vallverdú-Queralt e Lamuela-Raventós, 2016). Um movimento mundial que defende os direitos de venda e consumo de leite cru e queijo fortaleceu-se significativamente nos últimos anos (Vranješ et al., 2015).

Os queijos artesanais brasileiros são caracterizados pelo uso de leite cru, e por tecnologias de fabricação simples e tradicionais (Kamimura et al., 2019). Apesar dos esforços das autoridades brasileiras para atualizar a legislação, a fim de regulamentar a produção e comercialização de queijos artesanais (Brasil, 2018), a fabricação desses produtos muitas vezes não atende aos requisitos higiênico-sanitários exigidos pelos órgãos oficiais (Cezar et al., 2016).

No Estado de Mato Grosso do Sul, a economia é baseada principalmente no agronegócio. Dessa forma, há um forte componente cultural para valorização de alimentos produzidos de forma artesanal, os quais incluem os queijos. Em Campo Grande, estes produtos são facilmente encontrados em mercados, feiras e outros estabelecimentos comerciais.

Salmonella spp. continua a ser uma grande preocupação para a indústria de laticínios, uma vez que essa bactéria pode causar surtos de doenças transmitidas por alimentos, e foram isoladas de vários produtos lácteos (Costard et al., 2017; Soto-Varela et al., 2018; Ung et al., 2019).

Nesse contexto, este estudo descreve a detecção de *Salmonella* sp. em queijos artesanais, comercializados em Campo Grande, MS.

Metodologia

Foram coletadas oito amostras de queijo artesanal (cerca de 300g) em mercados públicos em Campo Grande, MS, entre maio e junho de 2018. As amostras foram colocadas em sacos plásticos estéreis e acondicionadas em caixa térmica com gelo. No Laboratório de Microbiologia da Universidade Católica Dom Bosco, as amostras de queijo foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada tamponada (APT) e transferidas para erlenmeyers de 250 mL, os quais foram incubados a 37°C por 24h. Em seguida, 0,1 mL de cada suspensão foi transferido para tubos com 9 mL de

caldo Tetracionato Muller-Kauffmann com novobiocina (MKTTn), os quais foram incubados a 37°C por 24h. Em seguida, realizou-se inoculação por estrias por meio de esgotamento da alça de platina em placas contendo meio sólido seletivo *Salmonella-Shigella* (SS). As placas foram então incubadas a 37°C por 24 horas. Colônias com morfologia sugestiva de *Salmonella* spp. foram submetidas à extração de DNA com kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). Em seguida, realizou-se a pesquisa do gene *invA*, específico de *Salmonella* spp., por meio de reação em polimerase em cadeia (PCR), segundo Skyberg et al. (2006), usando os iniciadores F: 5'CTGGCGGTGGGTTTGTGTCTTCTCTATT3' e R: 5'AGTTTCTCCCCCTTTCATGCGTTACCC3'. Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e corados com GelRed™ (Biotium, EUA). Como controle positivo, utilizou-se DNA de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis INCQS 00258 (ATCC 13076).

Resultados e Análise

Foram detectados isolados bacterianos com morfologia sugestiva de *Salmonella* spp., ou seja, colônias opacas, translúcidas ou transparentes, cujo centro apresenta pigmentação negra ou não (Figura 1); em sete das oito (87,5%) placas de meio sólido diferencial seletivo SS.



Figura 1. Placa com meio *Salmonella-Shigella*, apresentando colônias sugestivas de *Salmonella* spp. (seta).

A morfologia das colônias, isoladamente, não permite a confirmação da identidade do gênero *Salmonella*, uma vez que outras enterobactérias podem ocasionalmente apresentar características semelhantes. Desta forma, é necessário lançar

mão de métodos confirmatórios, como as provas bioquímicas ou moleculares.

Os testes bioquímicos, empregados tradicionalmente para esta finalidade, são mais trabalhosos, demandando mais tempo para sua conclusão. Dessa forma, empregou-se a identificação molecular, a partir do DNA isolado destas colônias e amplificação do gene *invA* por PCR, a qual foi positiva em quatro das sete amostras (57,1%), com geração de fragmento de 1.070 pares de bases, visualizado em gel de agarose, após separação eletroforética (Figura 2).



Figura 2. Gel de agarose da amplificação do gene *invA* (seta) a partir de colônias sugestivas de *Salmonella* spp., obtidas a partir de cultura microbiológica de queijos artesanais de Campo Grande, MS. 1Kb plus: marcador de pares de bases, CN: controle negativo, CP: controle positivo, 1 a 7: isolados sugestivos de *Salmonella* spp.

Considerações Finais

Embora o tamanho da amostra seja pequeno, confirmou-se que mais da metade dos queijos artesanais coletados apresentavam contaminação por *Salmonella* spp. Dessa forma, sugere-se que possivelmente o consumo de queijos artesanais comercializados em Campo Grande pode oferecer um risco de infecção por *Salmonella* spp.

Agradecimentos

A Taynara N. Pasquatti, pela assessoria técnica no trabalho.

Referências

BRASIL. LEI 13.680/2018. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal, 2018.

CEZAR, R. D.; LUCENA-SILVA, N.; BORGES, J. M.; SANTANA, V. L.; PINHEIRO JUNIOR, J. W. Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. *Int. J. Mycobacteriol*, v. 5, p. 269-272, 2016.

COSTARD, S.; ESPEJO, L.; GROENENDAAL, H.; ZAGMUTT, F. J. Outbreak-Related disease burden associated with consumption of unpasteurized cow's milk and cheese, United States, 2009-2014. *Emerg. Infect. Dis*, v. 23, p. 957-964, 2017.

KAMIMURA, B. A.; DE FILIPPIS, F.; SANT'ANA, A. S.; ERCOLINI, D. Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. *Food Microbiol.*, v. 80, p. 40-49, 2019.

SKYBERG, J. A.; LOGUE, C. M.; NOLAN, L. K. Virulence genotyping of *Salmonella* spp. with multiplex PCR. *Avian Dis.*, v. 50, n. 1, p. 77-81, 2006.

SOTO-VARELA, Z. E.; GUTIÉRREZ, C. G.; DE MOYA, Y.; MATTOS, R.; BOLÍVAR-ANILLO, H.; VILLARREAL, J. L. Molecular detection of *Salmonella* spp., *Listeria* spp. and *Brucella* spp. in fresh artisanal cheese marketed in the city of Barranquilla: A pilot study. *Biomedica*, v. 38, p. 30-36, 2018.

UNG, A.; BAIDJOE, A.Y.; VAN CAUTEREN, D.; FAWAL, N.; FABRE, L.; GUERRISI, C.; DANIS, K.; MORAND, A.; DONGUY, M. P., LUCAS, E.; ROSSIGNOL, L., LEFÈVRE, S.; VIGNAUD, M. L.; CADEL-SIX, S.; LAILLER, R.; JOURDAN-DA SILVA, N.; LE HELLO, S. Disentangling a complex Nationwide *Salmonella* Dublin outbreak associated with raw-milk cheese consumption, France, 2015 to 2016. *Euro Surveill*, v. 24, 2019.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Foodomics: A new tool to differentiate between organic and conventional foods. *Electrophoresis*, v. 37, p. 1784-1794, 2016.

VRANJEŠ, A.P.; POPOVIĆ, M.; JEVIĆ, M. Raw milk consumption and health. *Srp. Arh. Celok. Lek.*, v.143, p. 87-92, 2015.

INVESTIGATION OF *Salmonella* spp. IN ARTISANAL CHEESES FROM CAMPO GRANDE, MS

Abstract: *Salmonella* sp. continues to be a major concern for the dairy industry. In this context, we investigated the presence of *Salmonella* spp. in artisanal cheeses from Campo Grande, MS. Eight samples (300g) were collected in public markets. These samples were homogenized with 225 ml of BPW and incubated at 37°C for 24 hs. Then, 0.1 ml of each suspension was transferred into tubes with 9 ml of MKTTn broth, which were incubated at 37°C for 24 h. Colonies were isolated in SS agar, at 37°C for 24 h. Isolates suggestive of *Salmonella* spp. were submitted to PCR for *invA*. Isolates with compatible morphology were detected in seven of the eight (87.5%) SS plates. Molecular identification confirmed four of the seven isolates (57.1%) as *Salmonella* spp. Thus, this initial survey suggests that there is risk to the population for the consumption of artisanal cheeses in Campo Grande, MS.

Keywords: *Salmonellosis*, public health, artisanal products, foodborne diseases.