

IMPLEMENTAÇÃO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE PARA A PESQUISA DE SALMONELLA spp. EM CARNE MOÍDA

Congresso Iberoamericano de Saúde Pública Veterinária, 2^a edição, de 10/08/2020 a 15/08/2020
ISBN dos Anais: 978-65-86861-21-1

AMARANTE; Ariadne Ferreira ¹, GUIRELLI; Akemi Oshiro ², CARMO; Andréia Moreira dos Santos ³, NOVELLA; Maria Cecília Cergole ⁴, MATTOS; Elaine Cristina de ⁵

RESUMO

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) são uma crescente preocupação mundial. Além de acarretarem diversos problemas socioeconômicos, as DTAs representam um sério risco à saúde pública em decorrência da morbidade e mortalidade que provocam anualmente. No período de 2009 a 2018, a carne bovina *in natura* respondeu por 5,4% dos surtos alimentares ocorridos no Brasil e o gênero *Salmonella* foi um dos principais agentes etiológicos incriminados, sendo responsável por 11,2% dos casos. A carne moída, quando comparada aos demais cortes cárneos, apresenta maior risco de contaminação microbiológica por possuir maior superfície de contato, ser mais manipulada e poder ser moída em equipamentos mal higienizados, o que facilita o carreamento de micro-organismos patogênicos. Em casos de surtos por salmoneloses, o diagnóstico microbiológico é considerado o padrão ouro, entretanto, o resultado conclusivo leva aproximadamente uma semana e tal tempo prejudica a atuação das vigilâncias epidemiológica e sanitária. Dessa forma, é crescente a necessidade de desenvolver técnicas laboratoriais que demandem menos tempo para a identificação bacteriana em alimentos. Diante do exposto, este estudo teve como objetivos padronizar e implementar uma reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional para detectar *Salmonella* spp. em carne moída bovina e avaliar e comparar a sensibilidade da cultura bacteriana com a técnica implementada. Para tal, 4 amostras de 90 gramas cada de carne moída *in natura* foram adquiridas de estabelecimentos comerciais situados em cidades do ABC paulista (Santo André, São Caetano do Sul e São Bernardo do Campo) e cada amostra foi dividida em 3 porções iguais para 1) as realizações da cultura bacteriana, 2) contaminação experimental para verificação do limite de detecção e 3) padronização da técnica de PCR e comparação metodológica. A primeira porção de cada amostra foi encaminhada ao laboratório de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratório Regional de Santo André/SP VIII para o processamento da cultura bacteriana, que obteve 2 amostras com resultados positivos e 2 negativos para *Salmonella* spp. Em paralelo, contaminou-se experimentalmente com cepa de *Salmonella* IAL 1460 a segunda porção das 4 amostras com 8 diluições seriadas a partir da escala 0,5 de McFarland e após homogeneização estas foram congeladas por 24 horas. Após esse período, o descongelamento de cada uma das amostras ocorreu utilizando-se um funil recoberto com uma malha fina de gaze, de forma que o líquido resultante do processo se depositasse no tubo cônico acoplado ao funil. Esse filtrado cárneo foi centrifugado e utilizou-se o sedimento para extração do material genético, amplificação dos genes *oriC* e *invA* para identificar a presença de *Salmonella* spp., eletroforese e leitura, visando avaliar o limite de detecção da técnica desenvolvida. Para a comparação entre a técnica de PCR com o padrão ouro, a terceira porção das amostras (mantidas congeladas) foi descongelada e adicionou-se solução fisiológica a 0,85% estéril em volume correspondente ao peso de cada carne a fim de se obter o mesmo filtrado cárneo produzido na etapa anterior. Após homogeneização, todas as amostras foram congeladas por 24 horas e os processos de descongelamento, obtenção do sedimento e PCR foram realizados de acordo com a metodologia utilizada na contaminação experimental. Observou-se que a técnica de PCR apresentou limite de detecção de 1×10^6 UFC/mL.

¹ Médica veterinária - Discente do programa de Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública – Instituto Adolfo Lutz, ariadne_amarante@hotmail.com

² Centro de Laboratório Regional de Santo André VIII, akemi.guirelli@ial.sp.gov.br

³ Agente Técnico de Assistência à Saúde - Núcleo de Ciências Biomédicas – Instituto Adolfo Lutz, andreia.carmo@ial.sp.gov.br

⁴ Centro de Laboratório Regional de Santo André VIII, maria.novella@ial.sp.gov.br

⁵ Pesquisadora Científica – Núcleo de Ciências Biomédicas – Instituto Adolfo Lutz, elaine.mattos@ial.sp.gov.br

em 75% das amostras e para uma amostra (25%) o limite de detecção foi de 1×10^5 UFC/mL. Na etapa de comparação da técnica de PCR com o padrão ouro, verificou-se que todas as amostras apresentaram resultado negativo quando submetidas ao protocolo de PCR padronizado, o que indica que provavelmente havia concentração menor que 1×10^5 UFC/mL nas amostras diagnosticadas pela cultura bacteriana. Os resultados encontrados demonstram que a metodologia empregada necessita de ajustes, de modo a aperfeiçoar a detecção de *Salmonella* spp. em carne moída por PCR, contribuindo para melhorar o limite de detecção da técnica, tornando-a mais sensível e permitindo a identificação de amostras positivas em concentrações bacterianas inferiores. Neste estudo, a cultura bacteriana apresentou sensibilidade superior à PCR, porém, com algumas alterações metodológicas, esta técnica pode ser uma ferramenta viável para diagnosticar com maior rapidez os surtos alimentares provocados por salmoneloses, podendo ser empregada futuramente na rotina dos laboratórios, especialmente os que atendem às demandas de surtos de DTAs.

PALAVRAS-CHAVE: Carne moída, doenças transmitidas por alimentos, microbiologia alimentar, reação em cadeia da polimerase, *Salmonella* spp.

¹ Médica veterinária - Discente do programa de Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública – Instituto Adolfo Lutz, ariadne_amarante@hotmail.com
² Centro de Laboratório Regional de Santo André VIII, akemi.guirelli@ial.sp.gov.br
³ Agente Técnico de Assistência à Saúde - Núcleo de Ciências Biomédicas – Instituto Adolfo Lutz, andreia.carmo@ial.sp.gov.br
⁴ Centro de Laboratório Regional de Santo André VIII, maria.novella@ial.sp.gov.br
⁵ Pesquisadora Científica – Núcleo de Ciências Biomédicas – Instituto Adolfo Lutz, elaine.mattos@ial.sp.gov.br