



Instituto Politécnico
de Castelo Branco

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Soares, Ana Emília Gonçalves

Isolamento de *Listeria monocytogenes* a partir de diferentes amostras de silagem : comparação de métodos

<https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/1224>

Metadados

Data de Publicação

1999

Resumo

Este trabalho teve como principal objectivo contribuir para a selecção de um método mais eficaz e rápido de isolamento de *L. monocytogenes* e outras *Listeria sp.* em amostras de silagem. Para tal, foi comparado: a inoculação directa pela técnica de espalhamento vs. inoculação após enriquecimento pela técnica de espalhamento, dois caldos de enriquecimento, dois períodos de enriquecimento, dois meios de isolamento e, finalmente, dois volumes de inóculo. A pesquisa decorreu entre Fevereiro e Julho....

Tipo

report

Revisão de Pares

Não

Coleções

ESACB - Engenharia de Produção Animal

Esta página foi gerada automaticamente em 2024-04-25T05:08:37Z com informação proveniente do Repositório



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

ISOLAMENTO DE *Listeria monocytogenes*
A PARTIR DE DIFERENTES AMOSTRAS DE
SILAGEM - COMPARAÇÃO DE MÉTODOS

E Engenharia de Produção Animal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Ana Emília Gonçalves Soares

CASTELO BRANCO

1999

Índice

	Páginas
Agradecimentos	I
Resumo	II
Abstract	III
Abreviaturas	IV
Índice de figuras	V
Índice de tabelas	VI
I - Introdução	1
II - Revisão Bibliográfica	3
1- Silagem	4
1.1 - Introdução	4
1.2 - Sazonalidade da produção das plantas forrageiras	5
1.3 - Transformações bioquímicas e microbiológicas durante a fermentação	5
1.3.1 - Respiração	5
1.3.2 - Microbiologia do ensilado	6
1.3.3 - Trocas bioquímicas	8
1.3.3.1 - Carbohidratos	8
1.3.3.2 - Proteínas	9
1.3.3.3 - Ácidos orgânicos e capacidade tampão	10
1.3.3.4 - Pigmentos	11
1.4 - Factores que contribuem para uma silagem de boa qualidade	11
1.4.1 - Corte da planta no estágio vegetativo ideal	11
1.4.2 - Picagem ou laceração do material a ser ensilado	12
1.4.3 - Enchimento do silo	12
1.4.4 - Expulsão do ar durante o carregamento do silo	12

1.4.5 - Isolamento da massa ensilada	12
1.5 - Características de uma boa silagem	13
1.6 - Uso de aditivos	13
2 - <i>Listeria monocytogenes</i> e outras <i>Listeria</i> sp.	15
2.1 - Apontamento histórico	15
2.2 - Caracterização	15
2.2.1 - Morfologia	15
2.2.2 - Características culturais	16
2.2.3 - Características nutricionais	16
2.2.4 - Características bioquímicas	16
2.3 - Taxonomia	17
2.4 - Tipagem	18
2.4.1 - Serotipagem	18
2.4.1 - Fagotipagem	19
2.5 - Patogenicidade	19
2.6 - Listeriose em Humanos	20
2.6.1 - Incidência	20
2.6.2 - Susceptibilidade e resistência à infecção	21
2.6.3 - Sintomatologia	21
2.7 - Listeriose nos Animais	22
2.8 - Principais mecanismos de transmissão	23
III - Material e Métodos	25
1 - Métodos de amostragem	26
2 - Meios de cultura, reagentes e culturas microbiológicas	28
2.1 - Caldos de enriquecimento	28
2.1.1 - <i>Listeria Enrichment Broth</i>	28
2.1.2 - <i>Modified Fraser Broth</i>	28
2.1.3 - <i>Buffered Listeria Enrichment Broth</i>	29
2.2 - Meios de isolamento	30
2.2.1 - Gelose de Oxford	30
2.2.2 - Palcam	30

2.3 - Agar de triptona de soja com extracto de levedura	31
2.4 - Reagente da catalase	31
2.5 - Gelose de sangue	32
2.6 - Meio para o teste de CAMP	32
2.7 - Culturas microbiológicas	33
2.8 - Sistema de identificação	33
2.9 - Solução de Ringer	33
3 - Métodos utilizados na pesquisa, isolamento e identificação de	
<i>Listeria</i> sp.	34
3.1 - Preparação das amostras	35
3.2 - Enriquecimento	35
3.3 - Sementeira directa	36
3.4 - Isolamento	36
3.5 - Confirmação da suspeita de <i>Listeria</i> sp. e identificação	
da espécie	37
3.5.1 - Iluminação de Henry	37
3.5.2 - Caracterização bioquímica e morfológica	37
3.5.2.1 - Pesquisa da catalase	38
3.5.2.2 - Coloração de Gram	38
3.5.2.3 - Reacção de Hemólise	39
3.5.2.4 - Teste de CAMP	40
3.5.2.5 - Sistema de identificação bioquímica	
miniaturizado	40
3.6 - Confirmação definitiva e tipagem	41
4 - Análises físico - químicas	42
4.1 - Determinação da actividade da água (a_w)	42
4.2 - Determinação do pH	42
IV - Resultados e Discussão	43
1 - Resultados globais	44
2 - Presença de <i>Listeria</i> sp. nas amostras analisadas	44
3 - Confirmação da identificação e tipagem dos isolamentos	46

4 - Comparação entre a sementeira directa e a sementeira com enriquecimento	47
5 - Comparação entre os caldos de enriquecimento	48
6 - Prolongamento do período de enriquecimento	48
7 - Comparação entre os meios de isolamento	49
8 - Comparação entre os diferentes volumes de inóculo para espalhamento	50
9 - Actividade da água (a_w) e pH	51
V - Conclusões	52
VI - Bibliografia	54
Anexo I - Protocolo do API - <i>Listeria</i>	
Anexo II - Registo de dados	

Resumo

Este trabalho teve como principal objectivo contribuir para a selecção de um método mais eficaz e rápido de isolamento de *L. monocitogenes* e outras *Listeria* sp. em amostras de silagem.

Para tal, foi comparado: a inoculação directa pela técnica de espalhamento *vs.* inoculação após enriquecimento pela técnica de espalhamento, dois caldos de enriquecimento, dois períodos de enriquecimento, dois meios de isolamento e, finalmente, dois volumes de inóculo.

A pesquisa decorreu entre Fevereiro e Julho.

Verificou-se que a silagem de milho da Escola Superior Agrária de Castelo Branco e a silagem de milho da Quinta das Ínsuas apresentavam *L. innocua* serovar 6b. A fagotipagem das 12 estirpes enviadas ao *Institut Pasteur de Paris* permitiu a identificação de 4 lisovares diferentes. No entanto, 4 das estirpes foram não tipáveis (cerca de 42%).

Aconselha-se como método de análise o uso dos dois caldos de enriquecimento MFB + BLEB, com um enriquecimento de 7 dias. Como meio de isolamento, o mais adequado foi o Oxford e o volume de inóculo para espalhamento poderá ser variável, consoante o nível de contaminação da amostra.