

## Controle de qualidade em laboratório de microbiologia de alimentos e avaliação de desempenho de meios de cultura no isolamento de *Salmonella* spp.

Quality Control in food microbiology laboratory and evaluation of performance from the culture medium in the *Salmonella* spp. isolation.

Dilma Scala GELLI<sup>1</sup>  
Christiane Asturiano RISTORI<sup>1\*</sup>  
Adriana Aparecida BUZZO<sup>1</sup>

RIALA6/952

Gelli, D. S.; Ristori, C. A. e Buzzo, A. A. - Controle de qualidade em laboratório de microbiologia de alimentos e avaliação de desempenho de meios de cultura no isolamento de *Salmonella* spp. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(3): 159 - 164, 2003.

**RESUMO.** Os dados de laboratório devem ser reais e confiáveis, pois orientam os sistemas de controle de patógenos aplicáveis em toda a cadeia de produção de alimentos, especialmente para os de incidência e severidade consideráveis. Dentre as bactérias patogênicas de maior interesse à saúde pública estão as do gênero *Salmonella*, que podem estar presentes nos alimentos em baixos números ou em estado fisiológico de "stress", dificultando seu isolamento. Diversos laboratórios de pesquisa têm se preocupado com a validação de métodos analíticos para seu isolamento e detecção, avaliando a eficiência dos meios de enriquecimento e de isolamento seletivo. Com este propósito, foi desenvolvido e avaliado o desempenho de uma mistura de *Salmonella* Typhimurium e microrganismos competidores/interferentes (*E.coli*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *C.freundii* e *S.aureus*), mantidos sob congelamento à (-)18°C por 30 dias, a fim de referendar e validar a metodologia usada para o isolamento de salmonelas a partir de alimentos. Os resultados diários foram satisfatórios quanto à recuperação da *S.Typhimurium* utilizada como controle e demonstraram que é possível o preparo prévio da mistura controle. Os testes ecométricos, de seletividade e produtividade e de recuperação demonstraram a adequacidade geral dos meios de cultura e temperaturas usados nas diferentes etapas analíticas. Observou-se que o caldo Rappaport-Vassiliadis modificado apresentou melhor desempenho, por inibir a formação de véu (crescimento invasor) de *Proteus* nos meios sólidos usados.

**PALAVRAS-CHAVE.** *Salmonella* spp., controle de qualidade, alimentos, metodologia de isolamento.

<sup>1</sup> Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, S.P.

\*Endereço para correspondência:

Instituto Adolfo Lutz - Av. Dr. Arnaldo, 355 - São Paulo, S.P. - CEP 01246-902 - e-mail: car@usp.br

## INTRODUÇÃO

A validação das metodologias analíticas para o isolamento de patógenos em alimentos tem implicações importantes na saúde pública e do consumidor. Seu isolamento, para identificar as vias de transmissão ao homem e contaminação do meio ambiente é importante, pois pode permitir a adoção de medidas de controle. Entretanto, para que o dado científico e a monitorização de sua presença sejam confiáveis, podendo servir de base real para as atividades de controle, o método analítico deve ser comprovadamente efetivo e eficaz. Este diferencial é o que determina a confiabilidade do resultado e a sua adequabilidade para indicar onde uma medida de controle é aplicável em cada um dos elos da cadeia produtiva do alimento e garantindo a segurança (inocuidade) do alimento frente ao microrganismo em questão<sup>4</sup>.

Dentre os agentes de agravo à saúde, a *Salmonella* spp. tem importância e interesse consideráveis. Mundialmente, é um dos principais agentes responsáveis por doenças de origem alimentar<sup>3,9,13</sup>. É um dos principais a ser controlado pelos sistemas de gestão da segurança dos alimentos: aplicação das Boas Práticas, do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC, estabelecimento de parâmetros e procedimentos de normatização por órgãos públicos e interessados, entre outros.

As salmonelas pertencem à Família Enterobacteriaceae e são encontradas no trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente. Estão amplamente distribuídas na natureza, podendo contaminar produtos alimentícios<sup>9,13</sup>.

Entretanto, o isolamento desta bactéria a partir de alimentos tem interferências, tais como sua distribuição heterogênea entre unidades de um mesmo lote ou partida de alimentos, números baixos de células viáveis na amostra, diversidade e números proporcionalmente elevados de microbiota competidora presente, além do “stress” fisiológico (injúria física)<sup>1</sup>.

A análise laboratorial para a detecção desta bactéria é um processo de importância no contexto de saúde pública e da garantia do controle de produtos. As legislações e as condições endêmicas e epidêmicas exercem pressão para que o resultado seja confiável e caracterize a distribuição desta bactéria entre os produtos alimentícios. Portanto, não só por razões de credibilidade do laboratório, mas sobretudo pelas implicações sociais, de saúde pública e econômica, os resultados analíticos devem ser exatos e confiáveis.

As metodologias descritas para o isolamento da *Salmonella* spp. podem ser classificadas como padrão (pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo e isolamento a partir de meios seletivos) e métodos simplificados ou rápidos, para os quais o método padrão é referência<sup>6</sup>.

Segundo a “American Public Health Association” (APHA), a ocorrência de resultados não confiáveis é decorrente também da preparação imprópria dos meios de cultura ou da

ausência de controles biológicos pertinentes. A utilização de controles positivos (cepas padrão de *Salmonella*), controles negativos (teste de esterilidade e controles biológicos com outros microrganismos não-salmonela) e testes de recuperação de salmonela são necessários nos laboratórios de rotina diagnóstica e de pesquisa. Os controles de qualidade dos meios de cultura e dos métodos já estão descritos e são indispensáveis para referendar os resultados analíticos<sup>6,8</sup>. Entretanto, esses demandam atividades laboriosas, como por exemplo a necessidade diária de preparação das cepas para as provas de recuperação que acompanham a análise de amostras.

O objetivo deste trabalho é apresentar modelo de validação de meios de cultura e temperatura de incubação para o isolamento de *Salmonella* spp. em alimentos, utilizando uma cepa de *S.Typhimurium* e uma mistura de microrganismos competidores e interferentes (*E.coli*, *P.mirabilis*, *Paeruginosa*, *C.freundii* e *S.aureus*), mantidos sob congelamento à (-)18°C em presença de crioprotetor, no Laboratório de Microbiologia Alimentar no Instituto Adolfo Lutz Central e propor sistemática de conservação de cepas controle necessárias para as atividades de controle analítico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Cepas e seu preparo

As cepas de *Salmonella* *Typhimurium* Thomasville 1B, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* IAL 1022, *Staphylococcus aureus* IAL 1606 cedidas pela Seção de Coleção de Culturas Bacterianas do IAL, liofilizadas, foram reativadas em caldo infusão de cérebro e coração (BHI - Brain Heart Infusion Broth), incubado a 35°C/18h. Em seguida foi realizado um subcultivo das mesmas utilizando este mesmo meio.

### 2. Teste ecométrico

Os meios de cultura seletivos diferenciais foram testados pelo método ecométrico, segundo Mossel<sup>11</sup>. Os meios usados no presente trabalho foram: ágar *Salmonella-Shigella* (SS), ágar Verde Brillante (VB) e ágar Sulfito de Bismuto (ASB).

O teste ecométrico permite avaliar a capacidade seletiva e de produtividade da bactéria desejada. A avaliação dos resultados é baseada na formação de estrias de crescimento dos microrganismos nos meios sólidos testados, sendo dado o valor de 0,2 para cada estria. A soma total de cada estria formada é denominada de valor de Índice de Crescimento Absoluto (ICA)<sup>11</sup>. Para um meio de cultura ser considerado produtivo o ICA deve ser de pelo menos 3,5 e para ele ser seletivo a cepa desejada deve ter o ICA maior que 3,0 e as cepas não desejadas menor que 2,0.

### 3. Avaliação da seletividade, produtividade e recuperação da *S.Typhimurium* nos caldos de enriquecimento

### 3.1. Recuperação da *S.Typhimurium* nos caldos de enriquecimento

Tubos contendo 3 mL dos caldos BHI, selenito-cistina (SC) e Rappaport-Vassiliadis modificado (RV), respectivamente, foram inoculados com uma gota da cultura da cepa de salmonela, em fase estacionária. Este procedimento foi realizado em duplicata, para que a incubação fosse realizada em duas temperaturas, a 35°C e 42°C/18-24h. Após esse período foi realizada a partir de cada cultura, a Contagem Padrão em Placas (CPP)<sup>12</sup>, em ágar nutritivo, em profundidade, para a quantificação da cepa de salmonela, seguido da incubação a 35°C/24h.

### 3.2. Seletividade e produtividade dos meios de enriquecimento seletivos<sup>8</sup>

A cultura da cepa de *S.Typhimurium* cultivada em caldo BHI e em fase estacionária de desenvolvimento (18-24h de incubação a 35°C, que continha cerca de 10<sup>9</sup> UFC/mL), foi diluída até 10<sup>-12</sup> em água peptonada tamponada a 1% (APT). De cada uma das diluições, foram transferidas alíquotas de 1,5 mL para cada dois tubos contendo 15 mL de caldo selenito-cistina e de 0,1 mL para dois tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, modificado. A cada um dos tubos de meio de cultura de enriquecimento seletivo foi acrescentado 0,2 mL da mistura das culturas das bactérias interferentes, diluída a 10<sup>-2</sup> (em APT), ou seja, mistura das culturas das cepas de *E.coli*, *C.freundii*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis* e *S.aureus* (cerca de 10<sup>5</sup> UFC/mL de interferentes).

Um conjunto de tubos dos meios de enriquecimento seletivo (SC e RV), foi incubado a 35°C e o outro a 42°C por 18 horas. Após este período cada tubo foi semeado, por estrias, em superfície nos meios seletivos VB, SS e ASB e incubados a 35°C/18h.

As colônias características de *Salmonella* spp. foram isoladas em meio para identificação presuntiva de enterobactérias (IAL) e incubadas a 35°C/18h. As cepas que apresentavam provas bioquímicas características foram submetidas a provas sorológicas com anti-soros polivalentes somático e flagelar.

Estes testes foram repetidos quatro vezes e o resultado expresso foi a média destes.

### 4. Preparação e conservação da mistura *S.Typhimurium* e interferentes, para uso como controle do método analítico

A partir da cultura de *S.Typhimurium* em caldo BHI, fase estacionária, foram realizadas CPP, em profundidade, com ágar nutritivo e incubação a 35°C/24h<sup>12</sup>. Considerando a contagem obtida e os resultados dos testes de seletividade e produtividade, foi selecionada a diluição 10<sup>-7</sup>, que continha níveis de centenas de células viáveis/mL, para o preparo do controle. Em um pequeno tubo para congelamento (tubete) com capacidade para 2 mL, foi distribuído 1 mL de uma suspensão preparada com: 10 mL da diluição selecionada, 0,2 mL da mistura de interferentes e 2 mL de glicerol, como crioprotetor das células das bactérias. Os tubetes foram conservados a (-)18°C até o momento do uso.

### 5. Avaliação do uso dos tubetes congelados para o controle do método analítico

Diariamente, no período de um mês, um tubete controle foi descongelado a temperatura ambiente e usado para o controle do método. O conteúdo do tubete foi transferido para um frasco contendo 225 mL de APT. O controle foi analisado em paralelo com as amostras de alimentos para a determinação de salmonelas, utilizando-se as mesmas etapas analíticas, estufas e lotes de meios de cultura: pré- enriquecimento em APT, enriquecimento seletivo em SC e RV incubados a 35°C e 42°C, isolamento nos meios em placas SS, VB e ASB, isolamento das colônias em meio IAL e sorologia polivalente.

## RESULTADOS

### Teste ecométrico dos meios seletivos diferenciais

O teste realizado demonstrou valores de Índice de Crescimento Absoluto (ICA) máximos (5,0) para *S.Typhimurium*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa* e *C.freundii* nos meios SS, VB e ASB; para *E.coli* o valor do ICA foi de 0,2 no ágar SS e 5,0 nos outros dois meios, enquanto o *S.aureus* teve seu desenvolvimento inibido nos ágar SS e ASB e um ICA de 0,2 para o meio VB.

### Recuperação da *S.Typhimurium* nos caldos de enriquecimento

O valor médio obtido para a produtividade dos caldos SC e RV foi de 10<sup>8</sup> e o obtido no BHI de 10<sup>9</sup> (Tabela 1). Pode-se considerar que a diferença encontrada entre os meios não foi significativa, demonstrando, portanto, números finais de células viáveis de *S.Typhimurium* satisfatórios entre os meios de enriquecimento não seletivo (BHI) e de enriquecimento seletivo (SC e RV).

### Teste de seletividade e produtividade nos caldos de enriquecimento seletivo, a 35 e 42°C

Os resultados das quatro repetições da avaliação de produtividade e seletividade dos caldos de enriquecimento SC e RV em conjunto com os meios seletivos (SS, VB, ASB), revelaram a recuperação da cepa de *S.Typhimurium* até a diluição 10<sup>-10</sup>. Nas menores diluições (até 10<sup>-4</sup>) a bactéria foi isolada com facilidade, exceto para a combinação SC-VB onde houve produção de véu (crescimento invasor) de *P.mirabilis* que dificultou seu isolamento. Os resultados obtidos indicam, portanto, melhor desempenho do caldo Rappaport-Vassiliadis modificado nas duas temperaturas testadas, em relação ao selenito-cistina (Tabela 2).

### Avaliação da mistura de culturas/controle mantidas sob congelamento

Os resultados dos tubetes controle analisados no período de um mês, mostraram a recuperação da salmonela pela metodologia usada (com referência aos meios usados para o isolamento das salmonelas) durante todo o período considerado.

**Tabela 1.** Recuperação de *S.Typhimurium* (UFC/ml) nos caldos infusão de cérebro e coração (BHI), selenito-cistina e Rappaport-Vassiliadis, incubados a 35°C e 42°C/18-24h.

Temperatura de incubação \ Meios	Caldo BHI	Caldo selenito-cistina	Caldo Rappaport-Vassiliadis
35°C	1,2x10 <sup>9</sup>	2,7x10 <sup>8</sup>	4,9x10 <sup>8</sup>
42°C	1,6x10 <sup>9</sup>	2,6x10 <sup>8</sup>	4,6x10 <sup>8</sup>

**Tabela 2.** Média dos testes de seletividade e produtividade dos caldos selenito-cistina e Rappaport-Vassiliadis, incubados a 35°C e 42°C/18h-24h, para recuperação de *S.Typhimurium*.

Caldos (Temperatura de incubação) \ Meios sólidos	<i>S.Typhimurium</i> (Última diluição em que houve recuperação)		
	Ágar <i>Salmonella-Shigella</i> (SS)	Ágar verde-brilhante (VB)	Ágar sulfito de bismuto (ASB)
Selenito-cistina (35°C)	10 <sup>-4</sup>	Recuperação prejudicada*	10 <sup>-7</sup>
Selenito-cistina (42°C)	10 <sup>-7</sup>	Recuperação prejudicada*	10 <sup>-7</sup>
Rappaport-Vassiliadis (35°C)	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-10</sup>
Rappaport-Vassiliadis (42°C)	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>

\* = Recuperação prejudicada, pois houve produção de véu de *P.mirabilis*, dificultando o isolamento da *S.Typhimurium*

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O isolamento de *Salmonella* spp. em alimentos requer procedimentos complexos, com alguns fatores conhecidos e outros ainda não bem esclarecidos. Segundo Busse<sup>2</sup>, o sucesso da utilização de meios de enriquecimento antes do isolamento foi um passo decisivo para a detecção de *Salmonella*, necessário para melhorar os meios e procedimentos analíticos para o seu isolamento e identificação.

A produtividade dos meios de cultura, seletivos ou não, depende de fatores intrínsecos (nutrientes, potencial de óxido redução, pH, atividade de água, tipo e atividade dos antimicrobianos e/ou formação destes durante o aquecimento), fatores extrínsecos (temperatura de incubação e suas flutuações, pressão de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> do ambiente) e fatores implícitos (dependência nutricional do microrganismo, os fenômenos antagônicos e sinérgicos entre os componentes da microbiota e da amostra). Conforme os resultados obtidos no teste de recuperação, pode-se observar que a diferença no ciclo logarítmico não foi superior a 1,0 quando da comparação dos meios seletivos (RV e SC) com um meio não seletivo de referência (BHI).

A seletividade dos meios é dada pela presença de agentes inibidores na sua composição que possam, ao mesmo tempo suprimir, mesmo que parcialmente, a microbiota competidora e promover o desenvolvimento do microrganismo desejado. Selenito-cistina e Rappaport-Vassiliadis são meios comumente utilizados na detecção de salmonelas em alimentos e demonstram resultados satisfatórios, como os obtidos nos testes em questão. A recuperação da *S.Typhimurium* foi obtida até a diluição de 10<sup>-10</sup> da cultura inicial e isto ocorreu mesmo na presença de interferentes em número proporcionalmente maior, para as combinações de meios usadas nas etapas analíticas: RV-ASB, RV-SS e RV-VB, demonstrando ênfase maior para o caldo Rappaport-Vassiliadis que mostrou melhor recuperação que o caldo selenito-cistina (recuperação até 10<sup>-7</sup>). Quanto as temperaturas de incubação dos caldos, o desempenho do caldo Rappaport-Vassiliadis foi maior a 35°C e do caldo selenito-cistina a 42°C.

O comportamento dos contaminantes *P.mirabilis*, *E.coli*, *P.aeruginosa* e *C.freundii* no meio ASB, demonstrado por valores altos do Índice de Crescimento Absoluto, pode ter tido origem na etapa de preparação do meio e indicou que a seletividade do mesmo não foi satisfatória. Quanto à

seletividade, o meio SS foi o mais seletivo. Na presente avaliação, o fator decisivo para o isolamento de números baixos de salmonelas (nível de unidades de células presentes) foi o uso dos meios de enriquecimento seletivo (SC e RV).

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a importância da utilização de mais de uma combinação de meios de cultura, ou seja, pelo menos dois tipos de caldo de enriquecimento e três meios de cultura sólidos para o isolamento de *Salmonella* spp. a partir de amostras de alimentos.

Os testes de controle de qualidade dos meios de cultura para salmonelas, geralmente, demonstram a utilização de culturas puras e/ou material naturalmente contaminados (ex.: material de esgoto), porém, apesar de apresentarem a vantagem da avaliação da seletividade e produtividade no conjunto, tem a desvantagem da falta de uniformidade do material naturalmente contaminado. O método passa a não ser adequado para padronização do controle entre os laboratórios<sup>10</sup>. Além disso, o número de bactérias presente é também importante, estando diretamente relacionado com os resultados positivos de isolamentos<sup>7</sup>.

A preparação das cepas de *S. Typhimurium* e interferentes, mantidas sob congelamento para seu uso no controle do método e para validação dos resultados obtidos, não requer preparação diária e facilita a operacionalização de controle reprodutível, eficiente e rápido. Permite avaliar os fatores que possam interferir com o isolamento da salmonela a partir de alimentos e possibilita o estabelecimento de parâmetros e critérios de controle de qualidade dos meios de cultura, das etapas analíticas e do próprio analista. Estas questões, que podem ser abordadas separadamente, podem ser respondidas pelos resultados obtidos por um único teste e validadas. A seleção dos microrganismos interferentes tem

por base controles já descritos<sup>8</sup>, porém, foi adicionado o *S. aureus*, considerando que o mesmo está frequentemente presente nos alimentos e que sua presença poderia influir no resultado do isolamento da salmonela, em função da etapa de pré-enriquecimento. Pelos resultados obtidos, a recuperação da cepa controle de *Salmonella* spp. não foi prejudicada pela presença do *S. aureus*.

A padronização do controle deve ser realizada semestralmente. O teste ecométrico e a avaliação de seletividade e produtividade dos caldos de enriquecimento devem ser realizados a cada mudança de lote de meio de cultura desidratado recebido.

Sugere-se a realização dos testes utilizando-se como cepa padrão controle outros sorotipos de *Salmonella* para avaliar o desempenho do método, respectivo controle e preparação e, conservação das cepas-teste, conforme descrito no presente trabalho. Observa-se ainda, a necessidade de estabelecer diluições da bactéria que contenham apenas unidades de células viáveis, avaliação da utilização de outros crioprotetores, como o DMSO (dimetilsulfoxido)<sup>5</sup> e o aumento do prazo de congelamento dos tubetes.

O controle de qualidade em Microbiologia é mais uma arte que uma ciência e envolve aspectos inatingíveis, tais como senso comum, critério e atenção constante aos detalhes. Os programas devem ser organizados, considerando-se objetivos bem definidos. Ainda, por necessidade do processo de avaliação de riscos microbiológicos, os resultados de análises laboratoriais, para serem considerados válidos para os processos de gestão dos perigos bacterianos no alimento, tais como a aplicação das Boas Práticas e do Sistema APPCC, devem ser verdadeiros, confiáveis e reprodutíveis.

RIALA6/952

---

Gelli, D. S.; Ristori, C. A. e Buzzo, A. A. - Quality Control in food microbiology laboratory and evaluation of performance from the culture medium in the *Salmonella* spp. isolation. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(3):159 - 164, 2003.

**ABSTRACT.** The laboratory data should be real and reliable because they guide the systems of control of applicable pathogens in the whole chain of production of foods, especially for the one of incidence and considerable severity. Amongst the pathogens of greater interest to the public health, there are the *Salmonella* spp. which can be present in foods in a small quantity or in a physiological state of stress that makes difficult its isolation. Many research laboratories are studying the validation of analytical methods for its isolation, detection and evaluating the efficiency of the enrichment and selective medium isolation. It was studied the isolation of *Salmonella* Typhimurium from a mixture containing as well as the competitors/interfering microorganisms: *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *C. freundii* and *S. aureus*, maintained at (-)18°C during 30 days with the proposal to validate the same methodology in the isolation of *Salmonella* from foods. The daily results have shown good recovery of *S. Typhimurium* in the above mixture and it was shown as well as the possibility of using the control mixture. The recovery, ecometrics, selectivity and productivity tests showed that the conditions of culture and temperatures were adequate. It was observed that the modified Rappaport-Vassiliadis broth presented better performance due the inhibition of *Proteus* veil (swarm) in the solid samples used.

**KEY WORDS.** *Salmonella* spp., laboratorial quality, food, isolation.

---

## REFERÊNCIAS

1. Andrews, W.A. Methods for recovering injured "classical" enteric pathogenic bacteria (*Salmonella*, *Shigella* and Enteropathogenic *Escherichia coli*) from foods. In: **Injured Index and Pathogenic Bacteria: Occurrence and Detection in Foods, Water and Feeds**, Florida: Ray, B., 1989. c. 3, p.55-104.
2. Busse, M. Media for *Salmonella*. **Int. J. Food Microbiol.** 26(1):117-131, 1995.
3. Eley, A.R. Infective bacterial food poisoning. In: Sheffield, U.K., Adrian R. Eley. **Microbial Food Poisoning**, 2nd edition, 1996. p.15-21.
4. FAO Food and Nutrition Paper. **Manual of food quality control 12**. Quality assurance in the food control microbiological laboratory. 1991. p.1-8.
5. Floccari, M.E. Métodos de conservacion de cultivos bacterianos. **Rev. Arg. Microbiol.** 30(1):42-51, 1998.
6. Flowers, R.S. et al. *Salmonella*. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3rd ed., Washington, D.C., 1992. c. 25, p. 371-422.
7. Harvey, R.W.S.; Price, T.H. A Review Principles of *Salmonella* Isolation. **J. Appl. Bacteriol.** 46:27-56, 1979.
8. International Journal of Food Microbiology. Testing Methods for use in Quality Assurance of Culture Media. **Appendix (I)** 5:291-6, 1987.
9. Jakabi, M. et al. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella* sp, ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** 58(1):47-51, 1998.
10. Mackey, B.M. Quality control monitoring of liquid selective enrichment media used for isolating salmonellae. **Int. J. Food Microbiol.** 2:41-8, 1985.
11. Mossel, D.A.A., et al. Quality control of solid culture media: a comparison of the classic and the so-called ecometric technique. **J. Appl. Bacteriol.** 49:439-454, 1980.
12. Swanson, K.M.J. et al. Colony count methods. In: Vanderzant, C.; Splittstoesser, D.F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3rd ed., Washington, D.C., 1992. c. 4, p.75-95.
13. Varnam, A.H.; Evans, M.G. **Foodborne Pathogens**. Wolfe Publishing Ltd, c.4, 1991. p.51-85.

Recebido em 09/10/2002; Aprovado em 08/11/2003