



Detecção e quantificação de *Listeria monocytogenes* em leite e queijo através de PCR em tempo real.

Natália Angelim Rossa, Carlos Alexandre Sanchez Ferreira (orientador)

Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Faculdade de Biociências, PUCRS

Resumo

Na indústria de laticínios, grandes volumes de leite são armazenados por longos períodos em temperaturas que favorecem o crescimento de certas bactérias, comprometendo a qualidade e durabilidade do produto, além de representar problemas econômicos e de saúde pública. Entre elas, destaca-se a *Listeria monocytogenes*, caracterizada como bacilo Gram-positivo, oxidase negativo, anaeróbio facultativo, e com motilidade típica de tombamento. Devido à ampla distribuição na natureza, à capacidade de crescer em baixas temperaturas, à habilidade de adesão a superfícies, e resistência a desinfetantes, *Listeria* spp. são facilmente encontradas em alimentos, mesmo após tratamentos térmicos ou químicos, sendo a *L. monocytogenes* a mais envolvida em surtos de listeriose alimentares.

Este estudo tem como objetivo avaliar comparativamente a PCR em tempo real (qPCR) com a metodologia clássica de cultivo para a detecção e quantificação de células viáveis de *L. monocytogenes* em amostras de leite artificialmente contaminadas, bem como em amostras de leite e queijo provenientes de uma indústria de laticínios. Como cultura de referência, serão utilizadas as *L. monocytogenes* ATCC 7644 e ATCC 15313. A detecção *L. monocytogenes* em leites sem tratamento térmico de diversas marcas e queijos de minas frescal e ricota será realizada através de técnicas de microbiologia clássica e qPCR. O cultivo será realizado através da cultura em caldo UVM, incubado a 30°C por 24h. Após, 0,1 mL da cultura será transferido para 10 mL de caldo Fraser e incubado a 30°C por até 48h. Os cultivos sugestivos de presença de *Listeria* spp. serão semeados em agar Oxford, Palcam, e Triptose com Ácido Nalidíxico (ATN), e incubados a 30°C por 48h, a 30°C 24 a 48h e a 30°C por 24h, respectivamente. As possíveis colônias de *L. monocytogenes* serão semeadas em agar estoque inclinado e em ATN, incubados a 30°C por 24h, passando por provas bioquímicas e

de identificação: catalase, coloração de Gram, motilidade, redução de nitrato, VM-VP, β -hemólise, teste CAMP e fermentação de carboidratos (xilose, manitol e ramnose). A padronização da técnica clássica de cultivo foi realizada através da contaminação artificial do leite adicionando 1,0 mL de diluições decimais seriadas da cultura de *L. monocytogenes* com uma densidade celular de 10^8 UFC/mL. Desta forma, foi determinado o limite de detecção da técnica em 10^3 UFC/mL. As mesmas alíquotas foram submetidas à qPCR, mas os resultados não foram conclusivos. PROBIC/FAPERGS