

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *LISTERIA SPP* E *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLADAS DE SORVETES TIPO ITALIANO

Rafaeli Treviso¹, Crislaine de Lima¹, Maria karolina Lira¹, Mirian Enderle¹, Ana Pula Chaves¹, Wladimir Padilha da Silva², Liziane Schittler³

¹ Acadêmica do Curso de Engenharia de Alimentos CEO-PIVIC/UDESC

² Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas- UFPel

³ Orientador, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO –
liziane.schittler@udesc.br

Palavras-chave: Bioquimismo. testes fenotípicos. PCR.

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) ainda hoje são um problema sério de saúde pública pela severidade e frequência. A listeriose é uma DTA em humanos e ruminantes, causada pela bactéria intracelular facultativa *Listeria monocytogenes* que, quando atinge o sistema nervo, provoca meningite ou meningoencefalite, podendo levar a morte. O sorvete é um alimento rico em nutrientes e o seu processamento com matéria-prima inadequada ou em condições de higiene insatisfatórias, propicia a contaminação e a multiplicação deste micro-organismo no produto. O isolamento e identificação de *L. monocytogenes* é realizado através do pré- enriquecimento do alimento em meio de cultura específico, plaqueamento em ágar seletivo, e confirmação do gênero e espécie através de testes fenotípicos e métodos moleculares. Os testes fenotípicos, conhecidos como convencionais, podem apresentar alguma variabilidade nos resultados em razão da ação de fatores ambientais sobre a expressão gênica, baixo poder discriminatório em micro-organismos com pouca variabilidade genética e o risco de interpretação errônea. Já os métodos moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), apresentam maior especificidade do que os métodos convencionais por se basearem na amplificação de uma região única do genoma bacteriano. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo identificar molecularmente *Listeria spp.* e *L. monocytogenes* isoladas de sorvete tipo italiano. Para isto, primeiramente, realizou-se o isolamento, bem como a identificação do gênero e espécie através de testes fenotípicos, de acordo com a Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Vinte isolados de *Listeria spp.* foram obtidos, cujos DNAs foram extraídos conforme descrito pelo fabricante do kit Wizard[®] SV Genomic DNA Purification System. Para a identificação do gênero *Listeria* foram utilizados os oligonucleotídeos *prs1* (5'GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG 3') e *prs2* (5'CAAAGAAACCTTGGATTTGCGG 3'), conforme descrito por Doumith *et al.* (2008). Já para a identificação da espécie *L. monocytogenes*, foram utilizados os oligonucleotídeos *inlA1* (5'ACGAGTAACGGGACAAATGC 3') e *inlA2* (5'CCCGACAGTGGTGCTAGATT3'), conforme descrito por Liu *et al.* (2007). Os *primers* foram avaliados quanto à especificidade, utilizando-se o Blast – like Alignment Tool (Blast), através do software “Basic Alignment Search Tool” (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>). Os *primers* (*prs1* e *prs2*) e (*inlA1* e *inlA2*) amplificam fragmentos de 380 e 800 pb, respectivamente. Confirmou-se a identidade do Gênero *Listeria*. Na maioria dos isolados de sorvete italiano. Houve divergência entre os resultados utilizando-se testes bioquímicos e a PCR na identificação do gênero *Listeria*. Os resultados encontrados neste estudo demonstraram a importância da utilização dos métodos moleculares para a correta identificação do gênero *Listeria*.