

Padronização da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de micro-organismos patogênicos em amostras de leite bovino *in natura* oriundas de produtores do Vale do Taquari, RS.

Débora Kich, Camila Agostini, Adriane Pozzobon, Ivan Cunha Bustamante-Filho, Claudia Majolo, Vanderlei Biolchi, Cláucia Fernanda Volken de Souza, Eduardo Périco

Centro Universitário- UNIVATES

A região do Vale do Taquari, RS é um importante pólo de produção leiteira no Rio Grande do Sul. O leite e seus derivados são frequentemente contaminados por uma série de patógenos, entre estes, os *Staphylococcus aureus* e a *Listeria monocytogenes*. O *S.aureus* é uma bactéria presente na maior parte dos ambientes ocupados pelo homem, podendo contaminar, inclusive, sua pele, o que facilita a transmissão desta bactéria pelas mãos. A *L. monocytogenes* é um importante patógeno de origem alimentar. O presente estudo tem como objetivo principal utilizar a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) na detecção das bactérias *L. monocytogenes* e *S. aureus* em amostras de leite bovino *in natura* provenientes de produtores da região do Vale do Taquari. Para controle positivo foram feitas contaminações artificiais de leite com diferentes concentrações de *S. aureus* e *L. monocytogenes* ( $10^1$ ,  $10^3$ ,  $10^5$  e  $10^7$  UFC/ml) segundo a escala de Mac Farland e processadas junto com as amostras de oito produtores locais. As amostras foram submetidas a diferentes protocolos de isolamento do DNA bacteriano para posterior detecção pela técnica de PCR. Até o presente momento foram testados quatro protocolos de isolamento de DNA: 1- fenol-clorofórmio-isoamílico 2- isotiocianato de Guanidina 3- Kit comercial PrepMan (Applied Biosystems®), 4- fenol tamponado e proteinase k. Dos protocolos testados até o presente momento foi obtida a identificação do produto de 702pb correspondente a *L. monocytogenes* e o de 132pb correspondente ao *S. aureus* na contaminação artificial de  $10^7$  UFC/ml utilizando o protocolo 4. A extração de DNA de micro-organismos no leite é dificultada em virtude da presença de componentes inibitórios que podem bloquear o DNA ou impedir a ação da polimerase, portanto estão sendo testados e adaptados outros protocolos que utilizam a Lisozima para aperfeiçoar a extração e aumentar a sensibilidade da detecção.