

Inativação do *Mycobacterium Bovis* (espoligotipo sb1141) em creme de leite submetido a alguns parâmetros comerciais de pasteurização

Mycobacterium bovis (spoligotypesb1141) inactivation in whipping cream submitted to commercial pasteurization parameters

Rodrigues, L. A.¹; Ferreira Neto, J.S.¹; Ferreira, F.¹; Amaku, M.¹; Dias, R. A.¹; Gonçalves, V. S. P.²; Souza, G. O.¹; Telles, E. O.¹

A resistência térmica dos microorganismos é influenciada pelas características do agente, do substrato e do teor de gordura, dentre outros fatores. Embora a pasteurização do creme de leite tenha como objetivo a eliminação de microorganismos patogênicos eventualmente presentes no leite, além de reduzir os deteriorantes, não há parâmetro legal de tempo e temperatura de processamento desse produto. O *Mycobacterium bovis* é considerado um dos patógenos não formadores de esporo de maior resistência térmica que pode normalmente ser transmitido pelo leite. Em decorrência das atividades do Plano Nacional de Controle e Erradicação da Tuberculose e Brucelose Bovina, têm-se vários isolados autóctones dessa espécie. Assim, este trabalho se propõe a avaliar a inativação de *Mycobacterium bovis* (espoligotipo SB1141 isolado de bovino abatido no Estado de São Paulo) em creme de leite fresco submetido a alguns parâmetros comerciais de pasteurização. Creme de leite pasteurizado foi obtido no mercado, contaminado e submetido ao tratamento térmico em banho-maria a 75° C, 80° C, 85° C e 90° C, por 5 e 15 segundos. O agente foi quantificado por semeadura das diversas diluições, em duplicata, em meio Stonebrink com incubação a 36°C/45 dias. A redução na população variou de 3,9 log UFC/mL até a 6,8 log UFC/mL o que mostra que, nas condições do estudo, todos os binômios estudados mostraram-se capazes de reduzir a carga contaminante para níveis tão baixos ou menores que 0,1 log UFC/mL, considerando a máxima contaminação inicial natural do leite por *M. bovis* (4 log UFC/mL), citada por Ball (1943).

Financiamento: CNPq/Mapa edital 64 e Fapesp (auxílio nº 2007/07595-9).

¹Universidade de São Paulo, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-270, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: bufalo@usp.br

²Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.

Protocolo para estudos de sobrevivência do *Mycobacterium Bovis* em queijo parmesão

Protocol for study of *Mycobacterium bovis* surviving in parmesan cheese

Starikoff, K. R.^{1*}; Ferreira Neto, J. S.¹; Ferreira, F.¹; Amaku, M.¹; Dias, R. A.¹; Gonçalves, V. S. P.²; Souza, G. O.¹; Telles, E. O.¹

A legislação brasileira exige o uso de leite pasteurizado na fabricação de queijos, exceto se o produto tiver um período de cura superior a 60 dias. Porém, não há comprovação científica sólida de que o processo de maturação de queijos, por si só, seja suficiente para inviabilizar os patógenos eventualmente presentes no leite cru. Assim, este projeto se propôs a estabelecer um protocolo de estudo sobre o efeito do processo de cura na viabilidade do *Mycobacterium bovis* em queijo, que poderá ser utilizado para estudar o processo de cura de diferentes queijos sobre os diversos isolados autóctones que circulam no País, inclusive

outros patógenos. A escolha desse queijo para o estudo se deve ao fato de que, apesar de ser um queijo de cura longa (portanto pode ser fabricado com leite cru), observa-se no mercado a existência de produtos que apresentam características de cura curta, como a casca fina e massa macia, provenientes de empresas pequenas que dificilmente teriam condições de manter a produção de 60 dias em câmara de cura antes de colocar o produto no mercado. Dois queijos foram fabricados com leite experimentalmente contaminado com o espoligo tipo 1033 do *M. bovis* (6,0 log UFC/mL) e os queijos foram analisados semanalmente durante a cura a 18° C (dias 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63). As amostras foram submetidas à diluição decimal e seriada e semeadas em garrafas de cultivo celular contendo meio Stonebrink-Leslie adicionado de antibiótico e incubados a 36° C/45 dias. Os resultados mostraram uma redução média de 1,4 log UFC/g durante os 63 dias de cura (média foi de 5,5 log UFC/g no dia 1 e 4,1 log UFC/g no dia 63). Um terceiro queijo foi fabricado, mas os resultados foram perdidos porque houve grande crescimento de fungos no queijo, o que inviabilizou a análise, devido à deterioração do meio de cultura durante o período de incubação. Estão sendo realizados estudos com esses fungos, de forma a se conseguir alterar a fórmula do meio e reduzir a ocorrência dos danos causados por eles.

Financiamento: CNPq/Mapa edital 64

*Bolsista: Capes - cota de curso.

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-270, São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: bufalo@usp.br

²Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.

Desenvolvimento e validação de um novo método para produção de maleína para diagnóstico de mormo

Development and validation of a new method for production of malein for the diagnosis of glanders

Reis, J.K.P.¹; Leite, R.C.¹; Carvalho Filho, M.B.²; Ramos, R.M.²; Machado, E.R.³

O mormo é uma doença de potencial zoonótico que acomete primariamente os equídeos. O agente causal do mormo é a bactéria *Burkholderia mallei*, um bastonete pequeno, gram-negativo, imóvel, intracelular facultativo. No Brasil, as normas para controle e erradicação do mormo preconizam o uso dos métodos de diagnóstico de fixação de complemento e o teste imunológico da maleína. A maleína atualmente utilizada no Brasil é importada e produzida com cepas exóticas de *B. mallei* a partir de uma adaptação da técnica utilizada para produção de tuberculina, resultando em um produto primariamente proteico, mas ainda pouco purificado. No projeto em tela, com o objetivo de aumentar a qualidade do reagente e a especificidade do teste, foi efetuada a purificação parcial de quatro lotes de maleína produzidos com cepas autógenas de *B. mallei*. A purificação do reagente visou a separação das frações proteicas de peso molecular acima de 350.000 Da, consideradas mais imunorreativas. Foi utilizado um concentrado proteico produzido pela precipitação do sobrenadante de culturas de *B. mallei* pela adição de ácido tricloroacético. O antígeno foi purificado em um sistema de filtração tangencial equipado com uma membrana de celulose regenerada com ponto de corte de 300.000 Da. A fração purificada foi caracterizada por SDS-PAGE e HPLC e apresentou possuir peso molecular na faixa de 660.000 Da. As maleínas experimentais tiveram sua potência testada frente a um padrão internacional pela inoculação de