



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE

XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

Ocorrência de *Mycobacterium bovis* em queijo Coalho na região de Parnaíba, Piauí – Brasil¹

Marcio Roberto Silva², Bernardo Barbosa Rocha³, Guilherme Nunes de Souza⁴, Letícia Scafutto de Faria⁵, Karina Neoob de Carvalho Castro⁶, Maria Aparecida Scatamburlo Moreira⁷

¹ Parte da dissertação de mestrado de B. B. Rocha, projeto financiado pelo CNPq

² Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG. marcio-roberto.silva@embrapa.br

³ Mestrando, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG

⁴ Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG

⁵ Estagiária, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG

⁶ Pesquisadora, Embrapa Meio Norte, Parnaíba/PI

⁷ Professora, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG

Resumo: Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a ocorrência de *Mycobacterium bovis* no queijo Coalho produzido e comercializado em Parnaíba, Piauí. Por um período de dois meses, 30 amostras de queijo Coalho, procedentes do comércio formal (supermercados, padarias, mercadinhos) e informal (feiras, mercado aberto e banquinhas na rua), do município de Parnaíba, Piauí, foram avaliadas. As amostras foram adquiridas e acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e transferidas para o laboratório da Embrapa Meio Norte, onde posteriormente foram encaminhadas para o Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) MG para as análises. As amostras foram processadas, descontaminadas, semeadas e cultivadas em meios Stonebrink (SB) e Löwenstein-Jensen (LJ). Adicionalmente foram realizadas análises de qRT-PCR. Foram identificadas três amostras (10%) positivas para *M. bovis*. A comercialização de lácteos elaborados a partir de leite cru remete as autoridades sobre a possibilidade de transmissão desse patógeno aos seres humanos.

Palavras-chave: bactéria, produto lácteo, pasteurização, micobactéria, tuberculose

Occurrence of *Mycobacterium bovis* in Coalho cheese in Parnaíba, Piauí – Brazil

Abstract: This study was developed to evaluate the occurrence of *Mycobacterium bovis* in Coalho cheese produced from raw milk in Parnaíba, Piauí. During two months, 30 samples of Coalho cheese from formal (supermarkets, bakeries, markets) and informal (fairs and open market in streets) trades in Parnaíba county, Piauí, were evaluated. Samples were acquired and placed in cool boxes containing ice and transferred to the Farming National Laboratory (LANAGRO) for analysis. The cheese samples were cultured in simultaneously Löwenstein-Jensen (LJ) and Stonebrink (SB)-containing media. Further analyzes were performed using qRT-PCR in all samples. Three cheeses (10%) were positive for *M. bovis*. The marketing of dairy products made from raw milk refers authorities about the possibility of transmission of this pathogen to the human beings.

Keywords: bacterium, dairy product, pasteurization, mycobacteria, tuberculosis

Introdução

A produção de queijo artesanal, tradicionalmente feito com leite cru, no Brasil representa 40% do volume total de queijo produzido, assumindo assim uma fatia considerável do mercado de lácteos (SEBRAE, 2008). Na região nordeste o queijo Coalho é um dos principais queijos artesanais comercializados e consumidos, sendo incorporado à cultura regional, e este vem ganhando mercado em outras regiões do Brasil, entre elas a região Sudeste (SEBRAE, 2008).



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE

XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

O consumo de leite e derivados não pasteurizados pode oferecer riscos à saúde do consumidor, uma vez que muitos patógenos são veiculados pelo leite, porém esses dados não são na maioria das vezes, divulgados.

A maioria dos casos registrados de tuberculose zoonótica, devida ao agente etiológico *Mycobacterium bovis*, encontrada em áreas urbanas deve-se ao consumo de leite e derivados crus (GUIMARÃES & LANGONI, 2009).

O presente estudo tem como objetivo avaliar a ocorrência de *M. bovis* em queijo Coalho produzido e comercializados na região de Parnaíba, Piauí.

Material e Métodos

Trinta amostras de queijo Coalho foram adquiridas no comércio formal (supermercados, padarias, mercadinhos) e informal (feiras, mercado aberto e banquinhas na rua), do município de Parnaíba, Piauí durante um período de dois meses. As amostras foram adquiridas em sete datas, de 28 de novembro de 2011 a 23 de janeiro de 2012.

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas e enviadas à Embrapa Meio Norte e posteriormente encaminhadas ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) MG para análises. As amostras foram descontaminadas pelo método de Darzins e submetidas ao cultivo em meios Stonebrink (SB) e Löwenstein-Jensen (LJ). As leituras foram realizadas aos 7, 30, 45 e 70 dias de incubação a 36,5-37° C segundo a técnica descrita por Drobniowski et al. (2003).

Para a realização de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qRT-PCR), foram enviadas 25 gramas de cada amostra de queijo Coalho ao Laboratório Nacional de Agricultura (LANAGRO) de Pedro Leopoldo, laboratório de referência do MAPA, seguindo a metodologia padronizada no referido laboratório. As amostras foram submetidas à extração de DNA e posteriormente à realização da qRT-PCR para identificação de *M. bovis*, utilizando a sequência de inserção *RD4 (MB88)*. O gene da *Beta actina* foi usado para avaliar a qualidade do DNA extraído, segundo Bielanski, Algire & Lalonde (2009).

Resultados e Discussão

No presente estudo, não houve crescimento característico de colônias de micobactérias em nenhum dos meios de crescimento utilizados até 70 dias após a semeadura. As micobactérias são altamente exigentes no que se refere a nutrientes, em comparação com outras bactérias patogênicas. Essas características facilitam a multiplicação de contaminantes menos exigentes, o que torna indispensável a descontaminação previamente à tentativa de isolamento. Embora este processo seja necessário, é um processo que elimina os contaminantes de crescimento rápido, mas pode também eliminar células viáveis de *M. bovis* (BALIAN et al., 2002). Assim, provas moleculares foram utilizadas como auxiliares na identificação de *M. bovis*, embora não se identificou a viabilidade do microrganismo presente.

Três amostras (10%) de queijo Coalho foram positivas para *M. bovis* utilizando a técnica de qRT-PCR. Uma pesquisa realizada com produtos clandestinos apreendidos no estado de São Paulo verificou-se por diagnóstico molecular, que o DNA de *M. bovis* estava presente em 17 (22,7%) das 76 amostras de queijo analisadas (VIALTA et al., 2003).

A taxa de *M. bovis* encontrada nesse estudo, mesmo sem detecção de células viáveis, alerta as autoridades sobre a necessidade de mais pesquisas visando à busca desse patógeno em humanos, animais e alimentos.



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE

XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

O presente trabalho evidencia que a técnica de PCR pode ser utilizada como método diagnóstico complementar rápido e eficiente de *M. bovis* em amostras de leite bovino in natura, queijos elaborados a partir desse leite cru e demais produtos lácteos.

Em função da importância socioeconômica da tuberculose bovina e da tuberculose zoonótica para a Saúde Pública, espera-se que os resultados obtidos nesse estudo contribuam para alertar autoridades relacionadas aos setores Saúde e Agricultura sobre a importância deste tema. Finalmente, o controle da tuberculose bovina nos rebanhos é a forma mais racional de garantir a segurança do alimento e prevenir a saúde do consumidor.

Conclusões

Não houve crescimento característicos de colônias de micobactérias em nenhum dos meios de crescimento utilizados até 70 dias após a semeadura. Porém, utilizando-se a técnica de qRT-PCR, foram encontradas três amostras (10%) de queijo Coalho positivas para *M. bovis*.

Literatura citada

BALIAN, S. C.; PINHEIRO, S. R.; GUERRA, J. L.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA-NETO. Estudo comparativo de dois métodos de descontaminação na pesquisa de micobactérias. Arq. Inst. Biol. v. 69, n.2, p. 11-14, 2002.

BIELANSKI, A.; ALGIRE, J.; LALONDE, A. Transmission of bovine viral diarrhea virus (BVDV) via in vitro-fertilized embryos to recipients, but not to their offspring. Theriogenology, v. 71, n. 3, p. 499-508, 2009.

DROBNIIEWSKI, F.; STRUTT, M.; SMITH, G.; MAGEE, J.; FLANAGAN, P. Audit of scope and culture techniques applied to samples for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* by hospital laboratories in England and Wales. Epidemiol Infect, v.130, p. 235-237, 2003.

GUIMARÃES, F. F.; LANGONI, H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. Vet Zootec v. 16, p. 38-51, 2009.

SEBRAE. Queijos Nacionais- Leite e Derivados. Estudo de Mercado Sebrae\ESPM, p.34 2008.

VIALTA, A.; MORENO, I.; LERAYER, A. L. S.; VIEIRA, M. C.; GRAEL, E. T., BARBIERI, M. K. Caracterização microbiológica, microscópica e físico-química de produtos lácteos clandestinos apreendidos no estado de São Paulo. Revista Eletrônica de Epidemiologia das Doenças Transmitidas por Alimentos, v. 3, n. 6, p. 212-216, 2003.