



Detecção do DNA de *Clostridium estertheticum* (Clostridiales: Clostridiaceae) por PCR a partir da amplificação do 16s do RNAr

Jardim, EAGV¹; Mesquita, AQ²; Santos, WM³; Santana, AR⁴; Santos, GLP⁵.

¹ Médico Veterinário, responsável pelo Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Pesquisas em Alimentos da Universidade Federal de Goiás. ² Aluno do curso de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. ³ Aluno do curso de Biologia da Universidade Católica de Goiás. ⁴ Aluno do curso de Biologia da Universidade Católica de Goiás. ⁵ Aluno do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás.

profwesdras@yahoo.com.br

Palavras-chave: PCR, *Clostridium estertheticum*, carne embalada a vácuo, matadouros frigoríficos, deterioração

O gênero *Clostridium* pertencente à família Clostridiaceae, são seres procariotos, unicelulares, bastonetes gram-positivos, anaeróbios estritos, formadores de esporos, sendo na sua maioria saprófita e uma pequena parte patogênica à espécie humana. Entre os clostrídios psicrófilos, o *Clostridium estertheticum* tem sido incriminado como principal deteriorante e causador de tufamento de embalagens de carnes refrigeradas embaladas a vácuo, estocadas em temperatura entre -1,5 e 2,0 °C. Em consequência da deterioração são produzidos, ácido butírico, butanol e vários ésteres butíricos, que levam o produto cárneo à rejeição, desclassificação e severas perdas econômicas. Considerando a expressiva ocorrência do problema que prejudica a exportação brasileira de carne bovina in natura e a dificuldade de cultivo e isolamento do agente, fez-se necessário a utilização da técnica de PCR para a detecção do *Clostridium estertheticum*. Foram analisadas 3.547 amostras provenientes de matadouros-frigoríficos sob Inspeção Federal localizados em diversas regiões brasileiras, classificadas em 5 grupos que representam prováveis fontes de contaminação: superfície de ambiente (1), superfície de carcaça (2), superfície de corte cárneo (3), superfície de pele e/ou patas (4) e superfícies diversas (5). Para extração do DNA foi utilizado Kit comercial (Roche Applied Science®). Os oligonucleotídeos utilizados foram: *Forward* (5' – TGATCGCATGATCTTAACATCAAAG – 3') e *Reverse* (5' – TCGACCCCCGACACCTAGTATT – 3'), que anelam nas posições 173-197 e 813-792, respectivamente, da subunidade 16S do RNAr do *C. estertheticum* amplificando um fragmento gênico de 641 pares de base. Após a amplificação, o produto de PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1% e corado em solução de brometo de etídio. Foram obtidos os seguintes resultados para os grupos: (1) Positivos (2,76%), Negativos (97,24%); (2) Positivos (0,84%), Negativos (99,16%); (3) Positivos (2,66%), Negativos (97,34%); (4) Positivos (3,13%), Negativos (96,88%) e (5) Positivos (1,75%), Negativos (98,25%). Pode-se constatar que o *Clostridium estertheticum* encontra-se disseminado no ambiente dos matadouros-frigoríficos e observa-se que a sua presença foi relativamente maior nos pontos de coleta: (1), (3) e (4). Isto pode ser devido ao fato do *Clostridium estertheticum* ser um microrganismo telúrico, sendo a positividade desses resultados relacionada com o meio no qual o microrganismo é naturalmente encontrado. Desta forma, evidencia-se a sua presença em superfícies com maiores possibilidades de contaminação pelo solo e fezes e que apresentam maior dificuldade para a realização das operações de higienização. Ressalta-se, entretanto, que as baixas temperaturas nas salas de desossa e estocagem, associadas à condição de anaerobiose dos cortes cárneos embalados a vácuo, propiciam condições ideais para que o microrganismo assuma a forma vegetativa e multiplique-se. Os pontos de controle analisados são efetivos no monitoramento do *C. estertheticum* e os resultados justificam a revisão dos procedimentos operacionais padrões, relacionados principalmente com as operações de esfolagem, desossa, embalagem e estocagem dos cortes cárneos.