



XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil



Detecção de esporos de *Bacillus sporothermodurans* em leite em pó.

Livia C. Danielli*, Caio H. T. Iwase, Dirce Y. Kabuki

Resumo

Bacillus sporothermodurans é uma espécie mesófila formadora de esporos altamente resistentes ao calor (HHR - Highly Heat Resistant) que pode sobreviver aos tratamentos térmicos utilizados no processamento de leite em pó. Esta bactéria tem sido isolada de leite UAT (ultra alta temperatura), porém é pouco estudada em leite em pó. O objetivo do trabalho foi avaliar o nível de contaminação de esporos de bacilos HHR e de esporos de *B. sporothermodurans* em leite em pó. Foi realizada a quantificação de esporos HHR em 80 amostras de leite em pó, compreendendo os tipos desnatado, semidesnatado e integral. As contagens de esporos de bacilos HHR variaram de menor que 2,00 a 3,90 log UFC/g e 48,75 % (39/80) das amostras apresentaram contagens maior que 2,00 log UFC/g. Apenas 1,25 % (1/80) das amostras apresentou *B. sporothermodurans* com contagem de 2,00 log UFC/g.

Palavras-chave:

Bacillus sporothermodurans, PCR, leite em pó.

Introdução

O processamento do leite em pó envolve etapas de tratamento térmico que destrói a maioria dos micro-organismos, sobrevivendo apenas os resistentes ao calor⁵. As espécies formadoras de esporos como *Geobacillus stearothermophilus*, *Anoxybacillus flavithermus*, *B. sporothermodurans*, entre outras, podem resistir aos tratamentos utilizados. Além disso, a contaminação do produto pode ocorrer após tratamento térmico.

O tempo de vida de prateleira do leite em pó é cerca de um ano, devido à sua baixa atividade de água de 0,6³, que impede a multiplicação dos micro-organismos.

B. sporothermodurans é um bastonete aeróbio, Gram-positivo, móvel, mesófilo, deteriorante, que fermenta açúcar sem produção de gás². É produtor de esporos HHR e tem sido isolado de leite UAT². Entretanto, não há relatos em leite em pó.

Assim, os objetivos do trabalho foram: avaliar o nível de contaminação de esporos de bacilos HHR e de *B. sporothermodurans* em amostras de leite em pó, e utilizar a técnica da PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para identificação de *B. sporothermodurans*.

Resultados e Discussão

As colônias características de *B. sporothermodurans*, pequenas, de bordas arredondadas, de coloração branca a amarelada¹ em ágar infusão de cérebro e coração suplementado com vitamina B12, foram contadas e 60 foram isoladas para posterior identificação de *B. sporothermodurans* pela técnica PCR do gene 16S rRNA⁴.

Das 80 amostras de leite em pó analisadas, 48,75% (39/80) apresentaram esporos de bacilos HHR (100°C/30 min.) com contagens maiores que 2,00 log UFC/g. A faixa de contagem nas amostras variou de menor que 2,00 a 3,90 log UFC/g (Tabela 1).

Dos 60 isolados obtidos, apenas 2 foram confirmados como *B. sporothermodurans* pela técnica da PCR (Figura 1), sendo proveniente de uma amostra de leite em pó integral e a contagem de *B. sporothermodurans* calculada foi 2,00 log UFC/g.

A alta prevalência de bactérias esporuladas em leite em pó é uma preocupação, pois após a reconstituição estas podem deteriorar o produto se não forem

consumidas imediatamente ou mantidas a temperaturas de refrigeração.

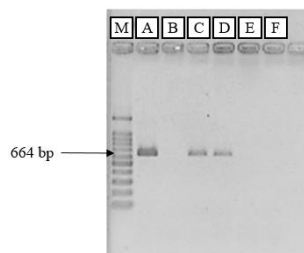


Figura 1. Foto do gel de eletroforese do produto da PCR para identificação de *B. sporothermodurans*

M: marcador de peso molecular de 100 bp; A: *B. sporothermodurans* DSM 10599; B: controle negativo; C e D: isolados positivos; E e F: isolados negativos.

Tabela 1. Faixa de contagem de esporos de bacilos altamente resistentes ao calor em amostras de leite em pó.

Tipo	Faixa de contagem (log UFC/g)
Integral	<2 – 2,70
Integral Instantâneo	<2 – 3,90
Desnatado	<2 – 3,00
Desnatado Instantâneo	<2 – 3,00
Semidesnatado	<2 – 3,00

Conclusões

Embora a prevalência de esporos de bacilos HHR tenha sido alta (48,75%) em leite em pó, a prevalência de *B. sporothermodurans* foi baixa.

B. sporothermodurans não é a espécie predominante entre os esporos mesófilos altamente resistentes ao calor em leite em pó.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa.

¹Montanari, G.; Borsari, A.; Chiavari, C.; Ferri, G.; Zambonelli, C. e Grazia, L. *J. Appl. Microbiol.* **2004**, 97, 802-809.

²Pettersson, B.; Lembke, F.; Hammer, P.; Stackebrandt, E. e Priest, F.G. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **1996**, 46, 759-764.

³Richter, R.L. e Vedamuthu, E.R. *APHA*, **2001**, 483-495.

⁴Scheldeman, P.; Herman, L.; Goris, J.; De vos, P.; Heyndrickx, M. *Journal of Applied Microbiology*, v. 92, p. 983-991, 2002.

⁵Skanderby, M.; Westergaard, V.; Partridge, A. e Muir, D.D. In: TAMIME, A. Y. **2009**, 99-148.