

## RESISTÊNCIA TÉRMICA DE *BACILLUS PUMILUS* ISOLADO DE LEITE MASTÍTICO

JÚLIA SOMAVILLA LIGNON<sup>1</sup>; BRUNA DA ROSA WILLRICH<sup>2</sup>; EMANOELE FIGUEIREDO SERRA<sup>3</sup>; WINNIE DE OLIVEIRA DOS SANTOS<sup>4</sup>; CAROLINA BOHN<sup>5</sup>; JOÃO LUIZ ZANI<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [julialignon@gmail.com](mailto:julialignon@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [bruna-willrich@hotmail.com](mailto:bruna-willrich@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [emanoele.serra@gmail.com](mailto:emanoele.serra@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [winnie-oliveira@hotmail.com](mailto:winnie-oliveira@hotmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [carolbohn@hotmail.com](mailto:carolbohn@hotmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [jluizzani@outlook.com](mailto:jluizzani@outlook.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A produção leiteira é uma das atividades mais tradicionais no setor agropecuário brasileiro. Dentre as enfermidades que acometem o gado leiteiro, a mastite é considerada uma das mais complexas e onerosas doenças infecciosas (ZOOCAI et al., 2008). Ao mesmo tempo, representa um risco potencial à saúde pública, em decorrência da eliminação de patógenos causadores de zoonoses e das toxinas produzidas pelos microrganismos do leite (FONSECA & SANTOS, 2000).

Na forma subclínica da doença, através de testes específicos, pode-se observar alterações na composição do leite, como aumento de células somáticas, aumento de proteínas séricas e redução de componentes como caseína, gordura e lactose (VEIGA, 1998). Existe uma variedade muito grande de bactérias Gram negativas e Gram positivas que podem causar mastite, dentre elas as do gênero *Bacillus* spp.

*Bacillus pumilus* é uma bactéria esporulada e devido a isso apresenta grande resistência a elevadas temperaturas, incluindo ao procedimento de pasteurização (NIEMINEN et al., 2007). Esta bactéria já foi isolada em casos de septicemia neonatal (KIMOULI et al., 2011), intoxicação alimentar (YUAN & GAO, 2015) e em casos de mastite (BHATT et al., 2011).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resistência térmica de *Bacillus pumilus* isolado do leite de vacas com mastite.

### 2. METODOLOGIA

Os isolados de *Bacillus pumilus* foram obtidos a partir de amostras de leite provenientes de vacas leiteiras diagnosticadas com mastite de uma propriedade rural de Capão do Leão no Rio Grande do Sul. As amostras foram semeadas em ágar sangue no Laboratório de Saúde Populacional (Labasp) e caracterizadas segundo Cowan and Steel's (2004).

Para verificar a resistência térmica preparou-se um inóculo a partir de uma cultura de *B. pumilus* que foi ajustado a escala 0,5 de McFarland. Foram colocadas duas amostras de 10 mL desse inóculo em banho-maria à temperatura de 80°C.

Uma amostra foi retirada após 15 minutos e outra após 30 minutos, e logo após estas foram semeadas em duplicata em placas de ágar sangue e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas para posterior leitura.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as 24 horas de incubação foi verificado que todas as placas obtiveram o mesmo crescimento, após o tratamento térmico. Observou-se que a temperatura de 80° Celsius não foi suficiente para destruir os isolados de *B. pumilus*. Este resultado é compatível com o estudo de Nieminen et al. (2007), que realizou testes comprovando a resistência do *B. pumilus* e do *Bacillus licheniformis* a procedimentos térmicos, incluindo a pasteurização. Segundo Nieminen et al. (2007) os esporos dessas espécies do gênero *Bacillus* são conhecidos por apresentarem estabilidade ao calor e dessa forma podem se manter viáveis após processos de descontaminação térmica na indústria de lácteos.

Poucos relatos na literatura indicam *B. pumilus* como causador da mastite, entretanto *Bacillus cereus* é continuamente isolado de alimentos lácteos (VIDAL-MARTINS et al., 2005). As enterotoxinas produzidas por ele são responsáveis pela síndrome diarreica, doença provocada pela ingestão de cepas de *B. cereus* produtoras de toxinas (REZENDE-LAGO et al., 2007).

Trabalhos de Mostert et al. (1979) consideraram *Bacillus cereus* resistentes ao processo UHT, tendo em vista a sobrevivência dos esporos ao tratamento térmico de 110°C por 15 minutos. Christiansson et al. (1999) e Vidal-Martins (2005) realizaram estudos sobre a sobrevivência do microrganismo e verificaram que o DNA de *B. cereus*, isolados antes e após o processamento térmico do leite, se mantem.

### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos com o presente estudo, conclui-se que *Bacillus pumilus* apresenta resistência térmica, sendo necessário adotar medidas de higiene que evitem a sua presença em produtos lácteos.

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHATT, V. D.; PATEL, M. S.; JOSHI, C. G.; KUNJADIA, A. Identification and antibiograma of microbes associated with bovine mastitis. **Animal biotechnology**, v. 22, n.3, p. 163-169, 2011.

CHRISTIANSSON A.; BERTILSSON, J.; SVENSSON, B. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. **J. Dairy Sci.**, v.82, p.305-314, 1999.

COWAN, S. T.; STEEL, K. J.: **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria**. Cambridge University Press, 2004. 331p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p. 39-141.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Estratégias para controle da mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ª ed. São Paulo: Editora Manole, 2007. P. 314

KIMOULI, M.; VRIONI, G.; PAPADOPOULOU, M.; KOUMAKI, V.; PETROUPOULOU, D.; GOUNARIS, A.; TSAKRIS, A. Two cases of severe sepsis

caused by *Bacillus pumilus* in neonatal infants. **Journal of Medical Microbiology**, v. 61, n. 4, p. 596-599, 2012.

MOSTERT, J.F., LUCK, H., HURMAN, R.A. Isolation, identification e practical properties of *Bacillus* species from UHT and sterilized milk. **South Africa Journal of Dairy Technology**, v. 11, n. 3, p. 125-132, 1979.

NIEMINEN, T. Toxinogenic *Bacillus pmilus* and *Bacillus licheniformis* from mastitic milk. **Veterinary Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 329-339, 2007.

REZENDE-LAGO, N.C.M., ROSSI JR, O.D., VIDAL-MARTINS, A.M.C., AMARAL, L.A. Ocorrência de *Bacillus cereus* em leite integral e capacidade enterotoxigênica das cepas isoladas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.6, p.1563-1569, 2007.

VEIGA, V. M. O. **Diagnóstico de Mastite Bovina**. Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL-ADT, EMBRAPA-CNPGL. Circular Técnica, n. 51, 1998. 24p.

VIDAL-MARTINS, A.M.C. Leite UAT: estudo das características microbiológicas e físicoquímicas e investigação epidemiológica de *Bacillus cereus* ao longo de sua produção e vida comercial. 2005. 134f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

YUAN, Y.; GAO, M: Genomic analysis of a ginger pathogen *Bacillus pumilus* providing the understanding to the pathogenesis and the novel control strategy. **Scientific Reports**, v. 5, n. 5, p. 1-9, 2015.

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A. V.; JUNQUEIRA, R. ZAMAGNO, M. A nova pecuária leiteira brasileira. In: *III Congresso Brasileiro de Qualidade de Leite*. Recife: CCS Gráfica e Editora, v.1, p. 85-95, 2008.