



**RECUPERAÇÃO DE LISTERIA MONOCYTOGENES ARTIFICIALMENTE
INOCULADA EM LEITE UAT: influencia do pH**

**Polyana de F. CARDOSO¹; Maria Bárbara de CARVALHO², Maria Clara F. de ASSIS³, Talita A. T.
CÂNDIDO⁴, Dalilla C. REZENDE⁵, Sandra Maria O. M. Veiga⁶**

RESUMO

Listeria monocytogenes é uma bactéria Gram positiva presente em alimentos, causadora da doença denominada listeriose. Apesar de pouco incidente, é responsável por graves complicações como meningite, septicemia e casos de aborto, apresentando um alto índice de mortalidade na população de risco, que inclui gestantes, recém-nascidos, idosos e imunodeficientes. Desde a década de 1980, quando a doença também foi relatada em humanos, vários estudos vêm demonstrando sua presença no leite e derivados, inclusive no leite pasteurizado e subprodutos. Esta pesquisa tem como objetivo verificar a influência do pH na recuperação de *Listeria monocytogenes* artificialmente inoculadas em leite UAT. Nove amostras de 50mL de leite UAT integral, com três diferentes valores de pH, foram contaminadas com suspensão do referido micro-organismo. Após incubação a 20°C por 12 horas, as amostras foram analisadas conforme metodologias oficiais. O micro-organismo foi quantificado na suspensão microbiana e nas amostras de leite inoculadas. Os resultados encontrados demonstram que a variação do pH não interferiu na sobrevivência do micro-organismo, o qual apresentou o mesmo padrão de viabilidade no leite UAT, com pH 4,0, 6,0 e 8,5, o que demonstra a sua alta resistência às condições inóspitas de crescimento microbiano.

Palavras-chave:

Microbiologia; pH; Leite UAT.

1. INTRODUÇÃO

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram positiva, presente em alimentos, causadora da doença denominada listeriose. Apesar de pouco incidente, é responsável por graves complicações como meningite, septicemia e casos de aborto, apresentando um alto índice de mortalidade na população de risco, que inclui gestantes, recém-nascidos, idosos e imunodeficientes ou imunossuprimidos. Desde a década de 1980, quando a doença também foi relatada em humanos, vários estudos vêm demonstrando sua presença no leite e derivados, inclusive no leite pasteurizado e subprodutos. O micro-organismo apresenta crescimento em uma ampla faixa de temperatura e pH e tolera também concentrações salinas elevadas (FRANCO; LANDGRAF, 2008, JAY, 2005). Esta

1 IFSULDEMINAS – pdf.cardoso@hotmail.com

2 UNIFAL-MG – mariabarbara97@gmail.com

3 UNIFAL-MG – mariafassis@hotmail.com

4 IFSULDEMINAS – talita.tranches@muz.ifsuldeminas.edu.br

5 IFSULDEMINAS – dalilla.rezende@ifsuldeminas.edu.br

6 UNIFAL-MG – smveiga@gmail.com



pesquisa tem como objetivo verificar a influência do pH na recuperação de *Listeria monocytogenes* artificialmente inoculadas em leite UAT.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Entende-se por leite UAT (Ultra Alta Temperatura), o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura 130° a 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32° C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas. A esterilização é tratamento que visa manter o alimento sem alteração de suas características, quando este é armazenado a temperatura ambiente. Este tratamento inativa praticamente todas as enzimas do leite, a exceção de lipases e proteases de origem bacteriana e destrói a totalidade das formas vegetativas e de resistência dos micro-organismos, a exceção de alguns esporos mais resistentes (BRASIL, 1996; BRASIL, 2017; MARTINS et al., 2008).

A listeriose é uma doença caracterizada por um conjunto de fatores causados pela bactéria *Listeria monocytogenes* como a septicemia, meningite, encefalite e infecção cervical ou intra-uterina. Normalmente, não é diagnosticada devido à característica de ser assintomática, sendo então, subnotificada (FRANCO; LANDGRAF, 2008, JAY, 2005).

O principal reservatório é o solo, lodo, forragem e água, estando associada à queijos, leite, carnes, peixes, frutos do mar, entre outros; o que justifica o principal modo de transmissão, a ingestão de leite contaminado, queijos, água, frutos do mar, legumes crus, dentre outros alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2008, JAY, 2005).

A *L. monocytogenes* é um bacilo Gram positivo, anaeróbio facultativo, não formador de esporos e cápsulas, pertencente à família *Listeriaceae* e gênero *Listeria*. O gênero possui seis espécies conhecidas, mas só a *L. monocytogenes* é capaz de causar a listeriose. O bacilo é de pequeno tamanho, apresentando 0,4 - 0,5 μ de comprimento e 0,5 -1,2 μ de largura (Silva et al. 2010). São capazes de fermentar a glicose e de produzir ácidos sem a formação de gás e produzir hemolisinas. Apresenta crescimento em uma ampla faixa de temperatura (1° - 45°C) e pH (4,3 – 9,6) e tolera concentrações salinas elevadas (\geq 10%) (FRANCO; LANDGRAF, 2008, JAY, 2005; ANDRADE, 2008).



3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram contaminadas nove amostras de leite UAT integral, com o micro-organismo *Listeria monocytogenes*, cepa cedida pela Fundação Ezequiel Dias (Funed), disponível no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UNIFAL-MG (Universidade Federal de Alfenas).

Foi empregada a cultura de *L. monocytogenes* em fase logarítmica de crescimento para preparar uma suspensão do micro-organismo, apresentando turvação semelhante ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland.

As amostras foram organizadas em três grupos, sendo um grupo controle e dois com variação de pH. O grupo controle ficou com o pH original do leite UAT (6,0). Em 3 amostras de leite, foi colocada a solução de HCl 10% estéril, até pH 4,0. Em outras três amostras, adicionou-se a solução de NaOH 10% estéril até pH 8,5.

Cada amostra continha 50ml de leite, sendo adicionada de 50 µL da referida suspensão de *L. monocytogenes*. As nove amostras foram incubadas em estufa BOD, a 20°C por 12h. Posteriormente, foram realizados os ensaios microbiológicos para a quantificação de *L. monocytogenes*, conforme proposto pelo Food and Drug Administration (FDA) e descrito no Bacteriological Analytical Manual (BAM) (SILVA et al., 2010).

O micro-organismo foi quantificado na suspensão microbiana e nas amostras de leite inoculadas. Todas as análises foram feitas em triplicata.

Pela metodologia microbiológica oficial, a amostra sofreu enriquecimento primário, secundário e a frio. Para as etapas citadas, foram utilizados 5 ml de cada amostra de leite contaminadas e para 45 ml de Caldo LEB (*Listeria Enrichment Broth*); na sequência, o conjunto foi homogeneizado e incubado a 30°C por 24h, para o enriquecimento primário.

Após esse período, foi realizado o plaqueamento em superfície, nos meios Agar Oxford (OXA) e Agar PALCAM, foi colocado 10µL do caldo em cada placa. Posteriormente, foram incubados em microanaerobiose a 35°C por 48h. Ao findar o tempo de incubação, as placas foram contadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A suspensão microbiana apresentou $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. As amostras controle (pH6,0) contaminadas apresentaram em média, $1,5 \times 10^5$ UFC/mL. As amostras com pH 4,0 e pH 8,5 também



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

ISSN 2319-0124

apresentaram em média, $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

Os resultados encontrados demonstram que a variação do pH não interferiu na sobrevivência do micro-organismo, o qual apresentou o mesmo padrão de viabilidade no leite UAT, com pH 4,0, 6,0 e 8,5, o que demonstra a sua alta resistência às condições inóspitas de crescimento microbiano.

Os dados encontrados neste estudo são semelhantes aos relatados por Andrade (2008), Franco; Landgraf (2008), Jay (2005), Cruz; Martinez; Destro (2008) e Silva et al. (2010).

5. CONCLUSÕES

A variação do pH não interferiu na sobrevivência do micro-organismo, o qual apresentou o mesmo padrão de viabilidade no leite UAT, com pH 4,0, 6,0 e 8,5.

AGRADECIMENTOS

À UNIFAL-MG e ao IFSULDEMINAS.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos**; avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo: Varela, 2008. 412p.
- BRASIL. Lei federal. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, 2017.
- BRASIL, Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria nº 146 DE 07 de março de 1996**.
- CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B.; DESTRO, M. T. *Listeria monocytogenes*: um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil. **Alim. Nutr**, v.19, n.2, p. 195-206, abr./jun. 2008.
- FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6ª ed. Artmed, 2005, 712p.
- MARTINS, A. M. C. *et al.* Efeito do processamento UAT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28 n. 2, p. 295-298, 2008
- SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise de microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010