



## AVALIAÇÃO DOS FATORES DE VIRULÊNCIA DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE LEITE ORGÂNICO CRU

VANESSA LUIZA DA CUNHA<sup>1</sup>, JESSICA FERNANDA FIRECK<sup>2</sup>, VANESSA GOMES DA SILVA<sup>3</sup>, CÁTIA TAVARES DOS PASSOS FRANCISCO<sup>4</sup>

### 1 Introdução/Justificativa

As bactérias ácido láticas (BAL) são microrganismos de importância industrial devido às suas diversas possibilidades de aplicações, como na elaboração de produtos lácteos, até a utilização em processos industriais. A maioria é considerada GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro), mas têm-se investigado que algumas possuem fatores de virulência. Este fato tornou a cadeia alimentar uma das rotas de transmissão da resistência bacteriana para seres humanos e animais, o que se tornou motivo de grande preocupação (FRAQUEZA, 2015).

Entre as BAL, os *Enterococcus* são encontrados em grande quantidade, estes habitam, predominantemente, o trato gastrointestinal dos seres humanos e dos animais, e ao entrar em contato com a natureza colonizam diferentes nichos como os alimentos de origem vegetal e animal. No entanto, são os que apresentam, na maioria das vezes, um maior número de fatores de virulência. Estes ocorrem devido à produção de substâncias de agregação, formação de cápsulas, de gelatinase, de produção de proteínas de superfície e formação de biofilme em superfícies abióticas, que dificultam a ação de agentes antimicrobianos (STRATEVA et al, 2016).

### 2 Objetivo

Verificar a expressão fenotípica de fatores de virulência em bactérias ácido láticas provenientes de leite orgânico cru.

### 3 Material e Métodos/Methodologia

Neste trabalho foram utilizadas 80 BAL isoladas de leite orgânico cru, sendo 41 cepas

- 1 Graduanda do curso de Engenharia de alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*, contato: vanessaluizacunha@gmail.com
- 2 Graduanda do curso de Engenharia de alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*, contato: fireckjessica@gmail.com
- 3 Médica Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*, contato: vanessa.silva@uffs.edu.br.
- 4 Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*, contato:catia.passos@uffs.edu.br. **Orientador.**



identificadas pelo DNA 16S ribossomal, seguindo metodologia proposta por Rodrigues et al (2016) e as amostras purificadas foram sequenciadas pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. As demais, foram identificadas em nível de gênero, por análises microscópicas e bioquímicas (CARR CHILL MAIDA).

Para a detecção da hemolisina, os isolados cresceram por 24h em ágar BHI e estriados em ágar sangue de carneiro, incubados de 24 a 48h/37 °C. Os resultados foram avaliados pela presença ou ausência de zona clara, onde a presença significa Beta-hemólise (positivo) e ausência, gama-hemólise (negativo) (Foulqui Moreno, Callewaert, Devreese, van Beeumen & Vuyst (2003) apud PIENIZ et al., 2015).

Para o ensaio da produção de gelatinase, os isolados foram incubados em placas com meio nutriente com 3% de gelatina e incubados por 48h/25°C. Os resultados foram considerados positivos pela presença de zona de turvação ao redor das colônias (CKA-WIERZCHOWSKA; ZADERNOWSKA e LANIEWSKA-TROKENHEIM, 2016, com modificação).

Para a Dnase isolados foram crescidos em ágar Dnase com azul de toluidina O e os resultados positivos foram determinados pela presença de zona clara (BANNERMAN, 2003 apud PIENIZ et al., 2015). As análises serão realizadas em duplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados, por tratar-se de uma análise qualitativa.

#### 4 Resultados e Discussão

Como pode ser observado na Tabela 1, nenhuma cepa apresentou resultado positivo para DNase. Para a Gelatinase os isolados que apresentaram resultado positivo foram os *Enterococcus* 136 e 234. A hemolisina foi a característica que apresentou o maior número de resultados positivos: *Streptobacteria* 33 e 122, e *Enterococcus* 47, 149, 150, 234, 267, 280, 282, 289, 370.

Com isso, pôde-se verificar que 2,4% das BAL apresentaram resultado positivo para Gelatinase, 13,25% positivo para hemolisina e 0% para Dnase. Portanto, mesmo que a maior parte das BAL investigadas neste trabalho tenham sido identificadas como *Enterococcus*, verificou-se que a minoria apresentou fenótipo de virulência, o que pode estar relacionado com a fonte de isolamento (leite orgânico).

#### 5 Conclusão

Embora as BAL tenham sido isoladas de fonte orgânica de alimentos, houve a expressão de fenótipos de virulência, o que leva a crer que mais trabalhos devam ser realizados nesta área.

#### Referências

CARR, F.J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The latic acid bacteria: a literature survey. Critical



Reviews in Microbiology, V.48, n.4, p. 281-370, 2002.

CKA-WIERZCHOWSKA, W.C., ZADERNOWSKA, A.; LANIEWSKA-TROKENHEIM, L. Virulence factors of *Enterococcus* spp. presented in food. LWT - Food Science and Technology, V. 75, p. 670-676, 2017.

PIENIZ, S.; DE MOURA, T.M.; CASSENEGO, A.P.V.; ANDREAZZA, R.; FRAZZON, A.P.G.; CAMARGO, F.A.O.; BRANDELLI, A. Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *Enterococcus durans* with potential probiotic effect. Food Control, V. 51, p. 49-54, 2015.

STRATEVA; T. *et al.* Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates collected in Bulgaria. Braz J Infect Dis 2016.

FRAQUEZA, M.J. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. International Journal Food Microbiology, V. 212, p. 76-88, 2015.

**Palavras-chave:** Hemolisina; DNase; Gelatinase, Bactérias Ácido Láticas.

**Financiamento** Fundação Araucária; Edital nº 495/GR/UFFS/2018.



**Tabela 1:** Resultados das análises de DNase, hemolisina e Gelatinase das bactérias isoladas de leite orgânico cru.

Bals (espécie)	Gelatinase	Hemolisina	DNase
<i>Streptobacteria</i>		33	
<i>Enterococcus</i>		47	
<i>Streptobacteria</i>		122	
<i>Enterococcus</i>	136		
		149	
		150	
	234	234	
		267	
		280	
		282	
		289	
		370	