

BACILLUS CEREUS EM PRODUTOS LÁCTEOS – UMA REVISÃO

Bacillus cereus in dairy products – a revision

Maíke Taís MAZIERO¹
Luciano dos Santos BERSOT²

SUMÁRIO

Bacillus cereus é uma bactéria termodúrica, formadora de esporos, capaz de se multiplicar em temperatura de refrigeração. Pode causar dois tipos de doenças de origem alimentar: a síndrome emética e a síndrome diarréica. Além do aspecto epidemiológico, *B. cereus* causa defeitos tecnológicos em produtos lácteos, relacionados com a produção de lipases e proteases. A presença de *B. cereus* em produtos lácteos vem sendo relatada por pesquisas feitas em vários países, bem como os defeitos tecnológicos associados à contaminação dos produtos por essa bactéria. Destacam-se, na presente revisão, os principais aspectos relacionados à presença de *B. cereus* em produtos lácteos. Para tanto, foram selecionados trabalhos relevantes e inovadores sobre *B. cereus* em várias bases de dados, entre elas, Science Direct, SciELO, Scirus e Google Acadêmico.

Termos para indexação: *Bacillus cereus*, psicrotrófico, protease, lipase.

1 INTRODUÇÃO

O grupo *Bacillus cereus*, também denominado *Bacillus cereus sensu lato*, compreende *Bacillus cereus sensu stricto* e outras cinco espécies estreitamente relacionadas: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoides* e *Bacillus weihenstephanensis* (LECHNER et al., 1998; JENSEN et al., 2003; BARTOSZEWICZ et al., 2008; GUINEBRETIERE et al., 2008, SENESI & GHELARDI, 2010).

B. cereus é uma bactéria amplamente encontrada na natureza, apresenta-se na forma de bastonete, Gram-positiva, aeróbia e formadora de esporo. Sua temperatura ótima de multiplicação varia de 25 a 37°C, mas existem espécies psicrotróficas e termodúricas, capazes de multiplicar entre 3 e 75°C (KRAMER & GILBERT, 1989; DROBNIOWSKI, 1993; DUFRENNE et al., 1995).

As células de *B. cereus* são grandes, com cerca de 1,0 a 1,2 µm de largura e 3,0 a 5,0 µm de comprimento, apresentam motilidade associada à flagelos peritríquios (KRAMER & GILBERT, 1989; RAJKOWSKI & BENNET, 2003). *B. cereus* é considerado um micro-organismo termodúrico, uma vez que seus esporos podem sobreviver aos processamentos térmicos utilizados na indústria

de alimentos (BRADSHAW et al., 1975; GAILLARD et al., 1998; CRONIN & WILKINSON, 2008). Os endósporos de *B. cereus* são resistentes a condições ambientais extremas, tais como, tratamento térmico e desidratação. Quando a condição é favorável os esporos podem germinar e se multiplicar nos alimentos processados (ABEE et al., 2011).

A termorresistência dos esporos de *B. cereus* pode variar de acordo com a estirpe (MAZAS et al., 1999; CRONIN & WILKINSON, 2008). Bradshaw et al. (1975) ao avaliarem duas estirpes de esporos de *B. cereus*, constataram uma estirpe termorresistente, com um valor $D_{121,1}$ de 2,35 minutos ($z = 7,9^{\circ}\text{C}$). Dufrenne et al. (1995) identificaram várias estirpes de *B. cereus* psicrotróficas e formadoras de esporos com valor D_{90} entre 2,8 a 9,2 min e, uma delas, com valor D_{90} superior a 100 min.

B. cereus tem sido isolado de uma grande variedade de alimentos processados e *in natura*, entre eles, arroz e massas, fórmulas infantis, vegetais, pimentas, alimentos prontos para comer, leite e derivados lácteos (SENESE & GHELARDI, 2010; CHAVES et al., 2011).

O tratamento térmico aplicado ao leite estimula a germinação dos esporos de *B. cereus* que, na ausência da microbiota competitiva, encontram condições favoráveis para multiplicar-se

1 Doutoranda em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico. Caixa Postal 19011 CEP 81531-990 Curitiba – PR. e-mail: maikemaziero@yahoo.com.br.

2 Prof. Doutor Universidade Federal do Paraná.

no produto (WATANUKI & GALLO, 2008). Os esporos de *B. cereus* germinam após o tratamento térmico do leite, uma vez que a temperatura ótima de ativação é de 65 a 75°C, ou seja, faixa de temperatura utilizada na pasteurização do leite. A maioria dos esporos (95%) dos esporos podem ser ativados após o processo de pasteurização (MEER et al., 1991).

Algumas estirpes podem se multiplicar em temperaturas de refrigeração (DUFRENNE et al., 1995; GARCÍA-ARMESTO & SUTHERLAND, 1997; LARSEN & JORGENSEN, 1999; GUINEBRETIERE et al., 2008, ZHOU et al., 2010). A combinação das características termotolerante e psicrotrófica em uma espécie microbiana denota o seu grande potencial deteriorante, considerando que este micro-organismo pode resistir aos principais tratamentos utilizados na indústria de alimentos e produzir lipases e proteases que irão afetar a qualidade do leite e derivados, além de questões de patogenicidade, que representam um problema para a saúde pública (MEER et al., 1991; MATTA & PUNJ, 1999).

2 PATOGENICIDADE DE *BACILLUS CEREUS*

B. cereus é responsável por dois tipos de doenças de origem alimentar: uma infecção chamada de síndrome diarréica, provocada por uma enterotoxina produzida *in vivo*, ou seja, produzida no intestino do hospedeiro; e a síndrome emética, uma intoxicação atribuída a uma toxina pré-formada no alimento (DROBNIEWSKI, 1993; AGATA et al., 1995; WIJNANDS et al., 2002, ARNESEN et al., 2008, SENESI & GHELARDI, 2010). A síndrome emética é caracterizada por ocorrência de náuseas e vômito 2 horas após do consumo do alimento contaminado (KRAMER & GILBERT, 1989). Os sintomas da síndrome diarréica são manifestados após 12 horas do consumo do alimento contaminado, os quais incluem náuseas, mal-estar e diarreia. A dose infecciosa é relativamente alta para dos dois tipos. No caso da síndrome diarréica a dose é de 10^5 a 10^8 células ou esporos e no caso da síndrome emética o número de células necessárias para produzir a toxina emética ainda não está bem estabelecido (ARNESEN et al., 2008). Ambas as síndromes apresentam duração dos sinais clínicos por cerca de 24 horas (KRAMER & GILBERT, 1989).

A toxina emética, também denominada de cerulida, é um dodecadepéptideo, resistente ao calor e ao pH (GRANUM & LUND, 1997). *B. cereus* produz concentrações de toxina emética significativamente maiores entre 12°C e 15°C, comparado a 30°C (FINLAY et al., 2000), o que reforça a preocupação com sua presença em produtos refrigerados.

Até o presente momento, foram identificados quatro tipos de enterotoxinas: 1) Toxina Hemolítica BL (HBL), uma enterotoxina hemolítica complexa, formada por três proteínas; 2) Enterotoxina Não-Hemolítica (NHE), também composta por três proteínas; 3) Enterotoxina T, uma proteína simples, e; 4) citotoxina K (CytK), outra proteína simples. Há relatos surtos de origem alimentar associados a três destas toxinas, sendo que a enterotoxina T ainda não foi associada a surtos (WIJNANDS et al., 2002; ARNESEN et al., 2008).

Apesar de *B. cereus* ser um micro-organismo amplamente encontrado na natureza, são raras as estirpes produtoras de toxina emética (ALTAYAR & SUTHERLAND, 2006). Além disso, existe uma grande diversidade entre as estirpes de *B. cereus* quanto à presença de genes enterotoxigênicos e habilidade de produzir toxinas eméticas. Muitas estirpes são formadoras de enterotoxinas, mas nem todas são capazes de causar doenças (WIJNANDS et al., 2006).

Em um levantamento feito no Brasil com 97 cepas isoladas de alimentos durante três décadas o complexo NHE foi positivo em 85,5% das estirpes para os três genes *nheA*, *nheB* e *nheC*. O complexo HBL (*hblA*, *hblC* e *hblD*) foi encontrado em 62,9% das estirpes e o gene *cytK* foi encontrado em 45,4% das estirpes. Os autores verificaram que estirpes isoladas do mesmo grupo de alimentos apresentam perfis toxigênicos distintos (CHAVES et al. 2011).

3 OCORRÊNCIA DE *BACILLUS CEREUS* EM PRODUTOS LÁCTEOS

A presença de *B. cereus* já foi relatada em leite *in natura*, pasteurizado, UHT, leite em pó, leites fermentados, sorvetes e outros derivados lácteos em diversos países (WONG et al. 1988; LARSEN & JORGENSEN, 1997; CHRISTIANSSON et al., 1999; VIDAL-MARTINS et al., 2005; REYES et al., 2007; REZENDE-LAGO et al., 2007; BARTOSZEWICZ et al., 2008; ZHOU et al., 2008). Wong et al. (1988), ao avaliarem 293 amostras de produtos lácteos adquiridos no comércio na China, detectaram a presença de *B. cereus* em amostras de leite em pó (29%), leite fermentado (17%), picolé (52%), sorvete (2%), leite pasteurizado (2%) e leite pasteurizado aromatizado (2%). Zhou et al. (2010) detectaram a presença de *B. cereus* em 24 das 40 amostras de sorvete (60%) também coletadas na China. Em 32% das amostras de leite pasteurizado comercializadas em Nova Iorque-EUA foi detectada a presença de *Bacillus* spp, 9% destas identificadas como *B. cereus* (FROMM & BOOR, 2004).

A contaminação de produtos lácteos com *B. cereus* é também relatada em trabalhos de pesquisa

realizadas no Brasil. Vidal-Martins et al. (2005) constataram a presença dessa bactéria em 11,8% de amostras de leite UHT comercializadas em São José do Rio Preto-SP. Este resultado pode indicar uma alta contagem de esporos no leite cru, tratamento térmico (tempo/temperatura) insuficiente para a inativação dos esporos ou contaminação pós-processamento. Rezende-Lago et al. (2007) identificaram 58,3% das 120 amostras de leite em pó, cru, pasteurizado e longa vida positivas para *B. cereus* em Ribeirão Preto-SP. Os autores identificaram uma maior taxa de positividade no leite pasteurizado, comparada ao leite cru, e relacionaram este resultado à contaminação do leite após o tratamento térmico. Algumas estirpes eram produtoras de enterotoxinas, o que indicou o risco potencial à saúde do consumidor ao ingerir produtos contaminados com esse patógeno. Maziero et al. (2010) encontraram 16,36% de 110 amostras de leite UHT comercializadas no estado do Paraná contaminadas por *B. cereus*, 100% apresentaram atividade proteolítica e 44,4% estirpes apresentaram atividade lipolítica a 30°C.

Embora a incidência de *B. cereus* em leite e derivados seja alta, as intoxicações causadas por este micro-organismo associado ao consumo de produtos lácteos são raras, com a ocorrência de casos limitados às residências, em geral não notificados (FDA, 2007). Possivelmente se houvesse um sistema de notificação apropriado, o leite e seus derivados seriam produtos relevantes considerando que a exposição do consumidor a este patógeno por meio do consumo de leite e derivados é considerada alta (NOTERMANS et al., 1997).

Não existe uma legislação brasileira específica para a presença de *B. cereus* no leite e nos derivados lácteos, com exceção para o leite em pó, em que é estabelecido um limite de $5,0 \times 10^3$ UFC/g (BRASIL, 2001).

4 FONTES DE CONTAMINAÇÃO

As principais fontes de contaminação do leite por *B. cereus* são o contato direto ou indireto com solo e poeira durante a ordenha e tetos sujos (CHRISTIANSSON et al., 1999; VISSERS et al., 2007). A água residual da lavagem dos equipamentos de ordenha e o tipo de material da cama de animais confinados também são importantes fontes de contaminação (MAGNUSSON et al., 2007). A estocagem do leite cru em tanques de refrigeração pode aumentar a incidência de esporos de *B. cereus* no leite, considerando que o tempo e a temperatura de estocagem favorecem a sua multiplicação (SVENSSON et al., 2004).

B. cereus apresenta capacidade de adesão e de formação de biofilmes em superfícies de equipamentos utilizados em laticínios, sendo difícil-

mente removidos pelos procedimentos de higienização rotineiros (SALUSTIANO et al., 2009). A capacidade de formação de biofilmes é observada mesmo em temperaturas de refrigeração (BERNARDES, 2008). A adesão de esporos de *B. cereus* em superfícies de tanques de refrigeração dificulta a sua remoção por meio dos procedimentos de higienização que incluem a lavagem com água quente e detergente alcalino (SHAHEEN et al., 2010). Os esporos de *B. cereus* podem se aderir, germinar e multiplicar na superfície dos trocadores de calor. Giffel et al. (1997) comprovaram que as mesmas estirpes detectadas na superfície dos trocadores de calor foram também detectadas no leite, o que permitiu atribuir aos equipamentos a contaminação pós-processamento.

A contaminação do leite cru por esporos tem sido relatada como a principal causa de presença de *B. cereus* em leite processado (VAISANEN et al., 1991; LIN et al., 1998; SVENSSON et al., 1999). Semelhança genética entre estirpes de *B. cereus* detectadas em leite cru, comparadas àquelas detectadas em leite pasteurizado, permitiram comprovar a resistência dessa bactéria aos processamentos térmicos (CHRISTIANSSON et al., 1999; SVENSSON et al., 1999). A presença de *B. cereus* em leite processado também pode ser associada à ocorrência de contaminação pós-processamento (REZENDE-LAGO et al., 2007), que é considerada um fator crítico na indústria de produtos lácteos (SCHRAFT et al., 1996).

A incidência de *B. cereus* no leite é maior no verão e na primavera. A sazonalidade de incidência deste micro-organismo pode ser atribuída às condições de manejo do rebanho, já que nas estações mais quentes os animais ficam livres no pasto, onde têm maior contato com o ambiente e, conseqüentemente, mais expostos à contaminação (SVENSSON et al., 2004; VISSERS et al., 2007; BARTOSZEWICZ et al., 2008).

5 ESTIRPES PSICOTRÓFICAS DE *BACILLUS CEREUS*

A presença de *B. cereus* em produtos lácteos tem causado graves problemas para a indústria de laticínios, principalmente as estirpes psicotróficas, as quais encontram nos produtos processados condições ideais para a sua multiplicação, principalmente pela quase ausência de microbiota competidora nestes produtos. Diferentes estirpes de *Bacillus* spp. podem apresentar comportamentos distintos sob diferentes temperaturas. García-Armesto & Sutherland (1997) classificaram essas estirpes em três grupos fisiológicos: um deles claramente psicotrófico, capaz de crescer a 6,5°C, em 10 dias, mas não cresce a 40°C em 2 dias; psicotrófico intermediário, capaz de crescer

a 40°C e a 6,5°C, e um outro grupo mesofílico, capaz de multiplicar a 30°C e a 40°C, mas não a 6,5°C. As estirpes de *B. cereus* avaliadas pelos autores apresentaram comportamento predominantemente intermediário.

Algumas características podem explicar a capacidade de determinadas estirpes de *B. cereus* se desenvolver em baixas temperaturas, por exemplo, a composição dos ácidos graxos da membrana celular. Estirpes psicotróficas de *B. cereus* têm maiores concentrações de ácidos graxos insaturados na membrana lipídica, comparadas às concentrações observadas em micro-organismos mesófilos (COUSIN, 1982). Os ácidos graxos insaturados permitem maior a fluidez da membrana sob baixas temperaturas. Portanto, pode-se dizer que a temperatura mínima de multiplicação do *B. cereus* tem relação direta com a composição de ácidos graxos da sua membrana celular (VAISANEN et al., 1991). Estirpes psicotróficas de *B. cereus* apresentam maior capacidade de germinação e multiplicação em produtos lácteos com alto teor de gordura, devido à hidrofobicidade dos seus esporos (LARSEN & JORGENSEN, 1997). Os lipídeos conferem um caráter protetor aos esporos, uma vez que a gordura apresenta baixa condutividade térmica (MEER et al., 1991).

Células vegetativas de estirpes psicotróficas de *B. cereus* apresentam fase lag inferior a 2 dias e tempo de geração entre 9,4 e 75,2 horas em leite refrigerado a 7°C (DUFRENNE et al., 1995). Quando o leite é mantido a 10°C, a fase lag passa a ser de 24 horas e o tempo de geração passa a ser de 4 horas (MEER et al., 1991).

Esporos de *B. cereus* mesófilos são mais termorresistentes que os esporos de *B. cereus* psicotróficos. No entanto, os esporos psicotróficos também podem sobreviver à pasteurização (GIFFEL et al., 1997; SVENSSON et al., 2004; PLANCHON et al., 2011). A germinação de esporos de *B. cereus* psicotróficos ocorre a 7°C, o que pode ser considerado um problema para produtos lácteos (LARSEN & JORGENSEN, 1999; DUFRENNE et al., 1994). Giffel et al. (1997) verificaram que 53% das cepas de *B. cereus* se multiplicaram a 7°C. Meer et al. (1991) relataram que 25% das estirpes de *B. cereus* isoladas em leite pasteurizado são psicotróficas e produzem enterotoxinas. Granun et al. (1993) avaliaram 85 estirpes de *B. cereus* isoladas em produtos lácteos na Noruega, das quais 59% era enterotoxigênica, sendo 15% destas psicotróficas.

B. cereus pode se multiplicar durante o período de estocagem do leite pasteurizado e a sua contagem no produto pode aumentar significativamente. Larsen & Jorgensen (1999) observaram baixas contagens, entre <10 a 10² UFC/mL, em duas de 27 amostras de leite recém pasteurizado,

no entanto, após 8 dias de estocagem a 7°C, as contagens foram superiores a 10⁵ UFC/mL, sendo 24 das 27 amostras positivas para *B. cereus*.

6 PROBLEMAS TECNOLÓGICOS ASSOCIADOS À CONTAMINAÇÃO DE PRODUTOS LÁCTEOS COM *BACILLUS CEREUS*

As alterações associadas às contaminações de produtos lácteos com *B. cereus* são consideradas importantes sob o ponto de vista tecnológico, uma vez que provocam uma redução do tempo de prateleira e o desenvolvimento de atributos sensoriais indesejáveis (ALMEIDA et al., 2000; CHEN et al., 2004; FROMM & BOOR, 2004; REZENDE-LAGO et al., 2007; DE JONGUE et al., 2010).

Meer et al. (1991) estimaram que 20 a 25% dos problemas de vida útil dos produtos lácteos comercializados nos Estados Unidos foram relacionados com a presença de enzimas produzidas por *B. cereus* e *B. mycooides* psicotróficos. Existe uma carência na literatura de dados mais atualizados referentes às perdas econômicas causadas por *B. cereus* em produtos lácteos.

Espécies do gênero *Bacillus* sintetizam várias enzimas, como proteases e lipases, as quais podem ser intracelulares ou extracelulares, o que reforça que muitas estirpes apresentam maior atividade extracelular de lipases (CHEN et al., 2004). *B. cereus* também apresenta atividade proteolítica, sendo esta mais acentuada sobre as caseínas, comparada à atividade sobre as proteínas do soro (CHOUDHERY & MIKOLAJCIK, 1970; JANSTOVÁ et al., 2006; MURUGAN E VILLI, 2009).

6.1 Atividade Lipolítica

A atividade lipolítica de *Bacillus* é maior em ésteres de cadeia curta, como o butirato, caproato, caprilato e caprato. Monoacilgliceróis e diacilgliceróis são hidrolisados mais rapidamente que os triacilgliceróis (CHEN et al., 2004). As lipases produzidas por *Bacillus* apresentam alta estabilidade térmica, sendo mais termorresistentes que as proteases. Esta estabilidade está associada à substituição da glicina por um resíduo de alanina no sítio ativo do pentapeptídeo Gly-X-Ser-X-Gly (CHEN et al., 2004).

A presença de lipases em queijos pode causar a hidrólise da gordura, com liberação de ácidos graxos e formação principalmente de ácido butírico, o qual confere sabor saponificado ao produto. O defeito é percebido ao longo da maturação e é comum em queijos de maturação prolongada, como Emmental, Gruyère, Parmesão e também no queijo Prato, de maturação mais longa. (FURTADO, 2005). Em leite UHT, a ação de lipases gera alterações sensoriais, como sabores rançoso, amargo,

butírico e de sabão durante a estocagem do produto (ANDERSSON et al., 1981).

A presença de lipases no leite cru pode afetar a qualidade do leite em pó (CHEN et al., 2003). O teor de ácidos graxos livres em leite em pó fabricado com leite cru armazenado por quatro dias é significativamente maior do que no leite em pó fabricado com leite recém ordenhado sendo que não há diminuição da atividade lipolítica durante o processamento do leite em pó (CELESTINO et al., 1997).

O teor de ácidos graxos livres (AGL) aumenta significativamente (0,08 a 0,50 mEq AGL/kg de gordura) em leite pasteurizado contaminado com *B. cereus*, armazenado sob refrigeração, por 14 dias. Uma análise sensorial feita com provadores treinados indicou o sabor de ranço nas amostras, considerado um defeito causado pela presença de ácidos graxos livres formados durante a lipólise (FROMM & BOOR, 2004).

B. cereus também produz lecitinase, que atua sobre a membrana fosfolipídica do glóbulo de gordura do leite, causando um defeito conhecido como "bitty cream", caracterizado pela aglomeração dos glóbulos de gordura (DE JONGHE et al., 2010)

6.2 Atividade proteolítica

As proteases liberadas pelas bactérias psicrotróficas no leite são, em sua maioria, metalo-proteases, com a presença de Ca e Zn. A maioria apresenta baixo peso molecular, com resíduos de glicina e alanina, concentrações mínimas de metionina, ausência de cistina e presença da alanina no grupo terminal N. A ausência de pontes dissulfeto entre as cadeias de aminoácidos, por promover uma maior flexibilidade na estrutura primária da enzima, confere grande estabilidade térmica a estas enzimas (MITCHELL et al., 1986).

A presença de Ca^{2+} e de Zn^{2+} na estrutura das proteases também contribui na estabilidade destas enzimas ao calor, com resistência à temperatura de 149°C, por 7 seg, similar ao tratamento UHT (BARACH et al., 1976).

A degradação da caseína do leite pela ação da protease produzida por *B. cereus* libera peptídeos de baixo peso molecular que podem causar a formação de sabores indesejáveis no leite (JANSTOVÁ et al., 2006). Esta proteólise provoca uma redução de 4,15% no teor de nitrogênio da caseína com relação a proteína total do leite (MURUGAN & VILLI, 2009).

A proteólise do leite UHT durante a estocagem em temperatura ambiente é o principal limitante de seu prazo de validade, associada a alterações na sua textura, como, aumento da viscosidade, o que ocasiona, em alguns casos, a formação de gel (VIDAL-MARTINS et al., 2005).

Proteases degradam as micelas de caseína, com liberação de componentes solúveis, como polipeptídeos e aminoácidos, os quais são perdidos no soro e, assim, acarreta na redução do rendimento de queijos (CARDOSO, 2006). Em leite em pó, a ação das proteases, além de provocar a formação de sabor amargo, pode reduzir a solubilidade do produto em água (CELESTINO et al., 1997; CHEN et al., 2003).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As perdas econômicas associadas à contaminação do leite e seus derivados com *B. cereus* representam um grande prejuízo para a indústria de alimentos, além dos riscos à saúde pública. Ressalta-se a importância do monitoramento e do controle deste patógeno em todas as etapas da cadeia produtiva do leite e seus derivados, principalmente no leite cru, considerando a resistência do microrganismo aos tratamentos térmicos aplicados na indústria, além da existência de estirpes psicrotróficas, capazes de se multiplicar durante o transporte e armazenamento dos produtos lácteos. A implementação de práticas adequadas para o manejo do rebanho e de higiene desde a produção são fatores importantes para a prevenção de contaminações microbianas do leite e seus derivados.

SUMMARY

Bacillus cereus is a thermophilic bacterium, spore former and able to multiply in freezing temperatures. It may cause two food-borne illnesses: emetic and diarrhoeal syndromes. Besides of epidemiologic issues, *B. cereus* causes technological defects on dairy products, due to proteases and lipases production. The presence of *B. cereus* in dairy products has been reported by researches worldwide as those caused defects associated to the product contamination by these bacteria. The present review aim to explore the main aspects related on *B. cereus* presence in dairy products. To this end, we selected the classic and innovative work about *B. cereus* in several databases, including, Science Direct, SciELO, Scirus and Google Scholar.

Index terms: *Bacillus cereus*, psychrotrophic, protease, lipase.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEE, T.; GROOT, M. N.; TEMPELAARS, M.; ZWIETERING, M.; MOEZELAAR, R.; VOORT, M. V. D. Germination and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* group members: diversity and role of germinant receptors. **Food Microbiology**, v. 28, p. 199-208, 2011.

- AGATA, N.; OHTA, M.; MORI, M.; ISOBE, M., A novel dodecadedepsipeptide, cerulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 129, p. 17-20, 1995.
- ALMEIDA, I. C.; SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P. Pesquisa de atividade lipolítica e/ou proteolítica em cepas psicotróficas de *Pseudomonas* spp e *Bacillus* spp. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 71, p. 58-60, 2000.
- ALTAYAR, M., SUTHERLAND, A. D. *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 1, p. 7-14, 2006.
- ANDERSSON, R. E.; DANIELSSON, G.; HEDLUND, C. B.; SVENSSON, S. G. Effect of a heat-resistant microbial lipase on flavor of ultra-high-temperature sterilized milk. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 6, p. 375-379, 1981.
- ARNESEN, L. P. S.; FAGERLUND, A.; GRANUM, P. E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 32, n. 4, p. 579-606, 2008.
- BARACH, J. T.; ANAMS, D. M.; SPECK, M. L. Stabilization of a psychrotrophic *Pseudomonas* protease by calcium against thermal inactivation in milk at ultrahigh temperature. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 31, n. 6, p. 875-879, 1976.
- BARTOSZEWICZ, M., B. M. HANSEN, I. SWIECICKA, The members of the *Bacillus cereus* group are commonly present contaminants of fresh and heat-treated milk. **Food Microbiology**, v. 25, p. 588-596, 2008.
- BERNARDES, P. C. Modelagem da adesão de *Bacillus cereus* ao aço inoxidável em função do tempo e temperatura e influência da rugosidade e da hidrofobicidade sobre a adesão. **Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. UFV, Viçosa – MG, 2008.
- BRADSHAW, J. G.; PEELER, J. T.; TWEDT, R. M. Heat resistance of ileal loop reactive *Bacillus cereus* strains isolated from commercially canned food. **Applied Microbiology**, v. 30, n. 6, p. 943-945, 1975.
- BRASIL, RDC 12. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**, 2 de janeiro de 2001, Brasília, 2001.
- CARDOSO, R. R. Influência da microbiota psicotrófica no rendimento de queijo minas frescal elaborado com leite estocado sob refrigeração. **Mestrado em Microbiologia Agrícola**. Viçosa – MG, 2006.
- CELESTINO, E. L.; IYER, M.; ROGINSKI, H. The effects of refrigerated storage of raw Milk on the quality of whole milk powder stored for different periods. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 119-127, 1997.
- CHAVES, J. Q.; PIRES, E. S.; VIVONI, A. M. Genetic diversity, antimicrobial resistance and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from food in Brazil over three decades. **International Journal of Food Microbiology**, v. 147, p. 12-16, 2011.
- CHEN, L.; COOLBEAR, T.; DANIEL, R. M. Characteristics of proteinases and lipases produced by seven *Bacillus* sp isolated from milk powder production lines. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 495-504, 2004.
- CHEN, L., DANIEL R. M., COOLBEAR, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 4, p. 255-275, 2003.
- CHOUHDHRY, A. K.; MIKOLAJCIK, E. M. Activity of *Bacillus cereus* proteinases in milk. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 53, n. 3, p. 363-366, 1970.
- CHRISTIANSSON, A., BERTILSSON, J., SVENSSON B. *Bacillus cereus* spores in raw milk: Factors affecting the contamination of milk during the grazing period. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 82, p. 305-314, 1999.
- COUSIN, M. A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, v. 45, n. 2, p. 172-207, 1982.
- CRONIN, U. P.; WILKINSON, M. G. *Bacillus cereus* endospores exhibit a heterogeneous response to heat treatment and low-temperature storage. **Food Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 235-243, 2008.
- DE JONGHE, V.; COOREVITS, A.; DE BLOCK, J.; COILLE, E. V.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L.; DE VOS, P.; HEYNDRIKX, M. Toxigenic and spoilage potential aerobic spore-formers isolated from raw milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 3, p. 318-325, 2010.
- DROBNIIEWSKI, F. A. *Bacillus cereus* and related species. **Clinical Microbiology Reviews** v. 6, p. 324-338, 1993.
- DUFRENNE, J., BIJWAARD, M., GIFFEL, M., BEUMER, R., NOTERMANS, S. Characteristics of some psychrotrophics *Bacillus cereus* isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 27 p. 175-183, 1995.

- FDA, **Raw milk outbreak table**, disponível em: www.cfsan.fda.gov/~acrobat/milksafe.pdf acesso em: 03/06/2009, 2007.
- FINLAY, W. J. J., LOGAN, N. A.; SUTHERLAND, A. D. *Bacillus cereus* produces most emetic toxina at lower temperatures. **Letters in Applied Microbiology**, v. 31, p. 385-389, 2000.
- FROMM, H. I.; BOOR, K. J. Characterization of pasteurized fluid milk shelf-life attributes. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. 207-214, 2004.
- FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. Fonte comunicações e editora. São Paulo, 200p., 2005.
- GAILLARD, S., LEGUERINEL I., MAFART, P. Model for combined effects of temperature, pH and water activity on thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 887-889, 1998.
- GARCIA-ARMESTO, M. R.; SUTHERLAND, A. D. Temperature characterization of psychrotrophic and mesophilic *Bacillus* species from milk. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 64, p. 261-270, 1997.
- GIFTEL, M. C.; BEUMER, R. R.; LANGEVELD, L. P. M.; ROMBOUTS, F. M. The role of heat exchangers in the contamination of milk with *Bacillus cereus* in dairy processing plants. **International Journal of Dairy Technology**, v. 50, n. 2, p. 43-47, 1997.
- GRANUM, P. E., BRYNESTAD, S., KRAMER, J. M.. Analysis of enterotoxin production by *Bacillus cereus* in dairy products, food poisoning incidents and non-gastrointestinal infections. **International Journal of Food Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 269-279, 1993.
- GUINEBRETHIÈRE, M. H.; THOMPSON, F. L.; SOROKIN, A.; NORMAND, P.; DAWYNDT, P.; EHLING-SCHULZ, M.; SVENSSON, B.; SANCHIS, V.; NGUYEN-THE, C.; HEYNDRIKX, M.; DE VOS, P. Ecological diversification in the *Bacillus cereus* group. **Environmental Microbiology**, v. 10, n. 4, p. 851-865, 2008.
- JANSTOVÁ, B.; DRACKOVÁ, M., VORLOVÁ, L., Effect of *Bacillus cereus* enzymes on the milk quality following ultra high temperature processing. **Acta Veterinariae Brno**, v. 75, p. 601-609, 2006.
- JENSEN, G. B.; HANSEN, B. M.; EILENBERG, J.; MAHILLON, J. The hidden lifestyles of *Bacillus cereus* and relatives. **Environmental Microbiology**, v. 5, n. 8, p. 631-640, 2003.
- KRAMER, J. M., GILBERT, R. J. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* Species. In: **Food Born Bacterial Pathogens**, Doyle, M. P. (Ed.). Marcel Dekker, New York, pp: 21-70, 1989.
- LARSEN, H. D., JORGENSEN, K. Growth of *Bacillus cereus* in pasteurized milk products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 46, p. 173-176, 1999.
- LECHNER, S.; MAYR, R.; FRANCIS, K. P.; PRUB, B. M.; KAPLAN, T.; WIEBNER-GUNKEL, E.; STEWART, G. S. A. B.; SCERER, S., *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, p. 1373-1382, 1998.
- LIN, S.; SHRAFT, H.; ODUMERU, J.A., GRIFFITHS, M. W. Identification of contamination sources of *Bacillus cereus* in pasteurized milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 43, p. 159-171, 1998.
- MAGNUSSON, M.; CHRISTIANSSON, A.; SVENSSON, B. *Bacillus cereus* spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. **Journal of Dairy Science**, Champain, v. 90, p. 2745-2754, 2007.
- MATTA, H., PUNJ, V. Isolation and identification of lipolytic, psychrotrophic, spore forming bacteria from raw milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 52, n. 2, p. 59-62, 1999.
- MAZAS, M., MARTINEZ, S. LOPEZ, M. ALVAREZ, A. B., MARTIN, R.. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* spores affected by solutes used to control water activity of the heating medium. **International Journal of Food Microbiology**, v. 53, p. 61-67, 1999.
- MAZIERO, M. T. M.; VIANA, C.; MONTANHINI NETO, R., PINTO, J. P. A. N., BERSOT, L. S. Incidence and lipolytic and proteolytic activity of *Bacillus cereus* in UHT milk. **Anais... 4th International Congress on Bioprocess in Food Industries**, Curitiba, Paraná, 2010.
- MEER, R. R., BAKER, J., BODYFELT F. W., GRIFFITHS, M. W. Psychrotrophic *Bacillus* spp in fluid milk products: A review. **Journal of Food Protection**, v. 54 p. 969-979, 1991.
- MITCHELL, G. E.; EWINGS, K. N. Physicochemical properties of proteinases from selected psychrotrophic bacteria. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 53, p. 97-115, 1986.
- MURUGAN, B.; VILLI, R. A. Proteolytic activity of *Bacillus* species isolated from milk and dairy products. **Tamilnadu Journal Veterinary & Animal Sciences**, v. 5, n. 2, p. 47-50, 2009.

- NOTERMANS, S.; DUFRENNE, J.; TEUNIS, P.; BEUMER, R.; TE GIFFEL, M.; WEEM, P. P. A risk assessment study of *Bacillus cereus* present in pasteurized milk. **Food Microbiology**, v. 14, p. 143-151, 1997.
- PLANCHON, S.; DARGAIGNARATZ, C.; LEVY, C.; GINIES, C.; BROUSSOLLE, V.; CARLIN, F. Spores of *Bacillus cereus* strain KBAB4 produced at 10°C and 30°C display variations in their properties. **Food Microbiology**, v. 28, p. 291-291, 2011.
- RAJKOWSKI, K. T.; BENNET, R. W. *Bacillus cereus*. **International hand book of foodborn**, Marcel Dekker, 839p, 2003.
- REYES, J. E., BASTIAS, J. M., GUTIERREZ M. R., RODRIGUES, M. O. Prevalence of *Bacillus cereus* in dried milk products used by Chilean school feeding program. **Food Microbiology**, v. 24, p. 1-6, 2007.
- REZENDE-LAGO, N. C. M., ROSSI JR., O. D. VIDAL-MARTINS A. M. C., AMARAL L. A., Occurrence of *Bacillus cereus* in whole milk and enterotoxigenic potential of the isolated strains. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 6, p. 1563-1569, 2007.
- SALUSTIANO, V. C.; ANDRADE, N. J.; SOARES, N. F. F.; LIMA, J. C.; BERNARDES, L. M. P.; FERNANDES, P. E. Contamination of milk with *Bacillus cereus* by port-pasteurization surfasse exposure as evaluated by automated ribotyping. **Food Control**, v. 20, p. 439-442, 2009.
- SCHRAFT, H.; STEELE, M.; MCNAB, B.; ODUMERU, J.; GRIFFITHS, M. W. Epidemiological typing of *Bacillus* spp isolated from food. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 11, p. 4229-4232, 1996.
- SENESI, S.; GHELARDI, E. Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. **Toxins**, v. 2, p. 1690-1703, 2010.
- SHAHEEN, R.; SVENSSON, B.; ANDERSON, M. A.; CHRISTIANSSON, A.; SALKINOJA-SALONEN, M. Persistence strategies of *Bacillus cereus* spores isolated from dairy silo tanks. **Food Microbiology**, v. 27, p. 347-355, 2010.
- SVENSSON, B.; EKELUND, K.; OGURA, H.; CHRISTIANSSON, A. Characterisation of *Bacillus cereus* isolated from milk silo tanks at eight different dairy plants. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 17-27, 2004.
- VAISANEN, O. M.; MWAISUMO, N. J.; SALKINOJA-SALONEN, M. S. Differentiation of dairy strains of the *Bacillus cereus* group by phage typing, minimum growth temperature and fatty acid analysis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 315-324, 1991.
- VIDAL-MARTINS, A. A., ROSSI JR., O. D., REZENDE-LAGO, N. C.. Mesophilic heterotrophic microorganisms and spore forming bacteria from *Bacillus cereus* group in ultra high temperature milk. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 396-400, 2005.
- VISSERS, M. M. M.; TE GIFFEL, M. C.; DRIEHUIS, F.; DE JONG, P.; LANKVELD, J. M. G. Minimizing the level of *Bacillus cereus* spores in farm tank milk. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3286-3293, 2007.
- WATANUKI, M. M.; GALLO, C. R. Detecção de *Bacillus cereus* em leite e avaliação da germinação dos esporos após tratamento térmico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 202-207, 2008.
- WIJNANDS, L. M., DUFRENNE, J. B. ZWIETERING, M. H., VAN LEUSDEN, F. M. Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. **International Journal Food Microbiology**, v. 112, p. 120-128, 2006.
- WIJNANDS, L. M.; DUFRENNE, J. B.; VAN LEUSDEN, F. M., Characterization of *Bacillus cereus*, disponível em: <<http://rivm.openrepository.com/rivm/handle/10029/9159>>. Acesso em 28/10/2009, 2002.
- WONG, H. C., CHANG, M. H., FAN, J. Y. Incidence and characterization of *Bacillus cereus* isolates contaminating dairy products. **Applied Environmental Microbiology**, v. 54, p. 699-702, 1988.
- ZHOU, G.; LIU, H.; HE, J.; YUAN, Y.; YUAN, Z. The occurrence of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis* and *B. mycooides* in Chinese pasteurized full fat milk. **International Journal of food microbiology**, v. 121, n. 2, p. 195-200, 2008.
- ZHOU, G., D. ZHENG, L. DOU, Q. CAI AND Z. YUAN, Occurrence of psychrotolerant *Bacillus cereus* group strains in ice creams. **International Journal Food Microbiology**, v. 137, p. 143-146, 2010.