

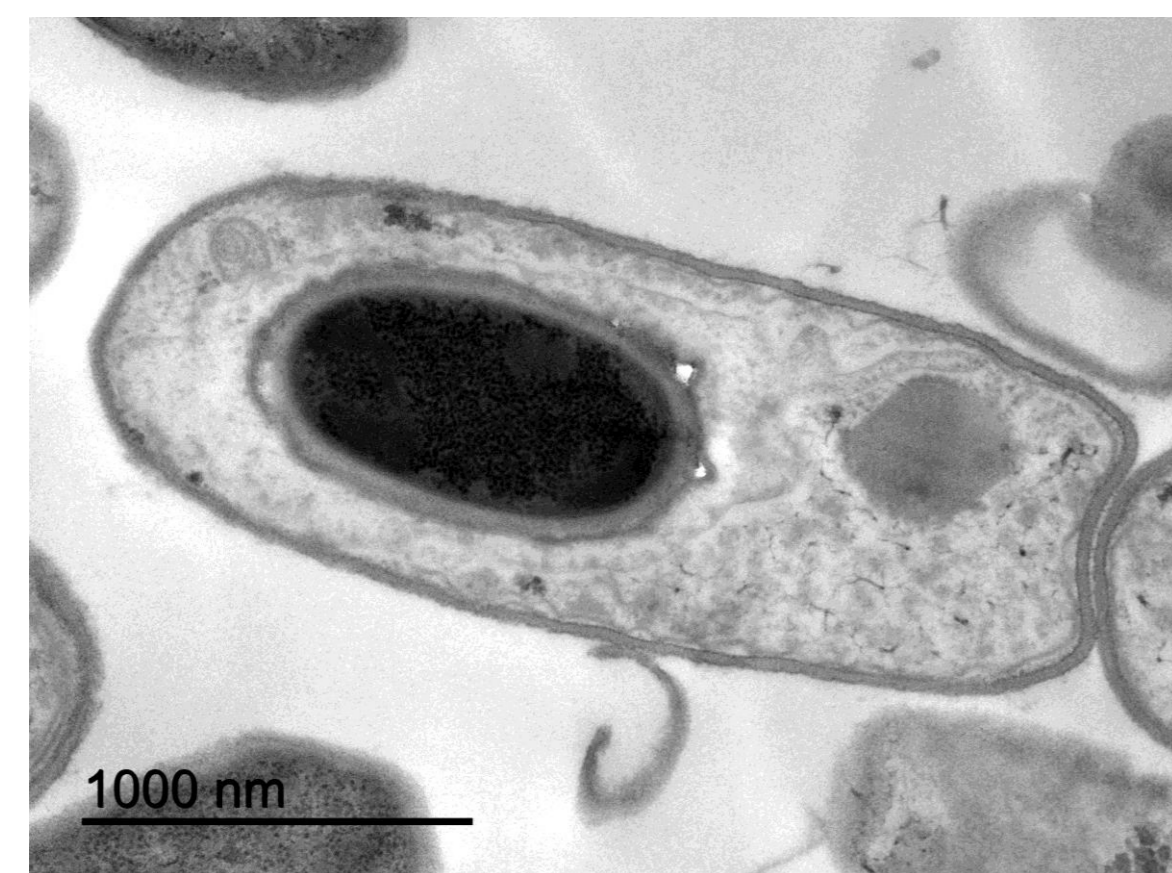
TERMORRESISTÊNCIA E MORFOLOGIA ESPORAL DE LINHAGENS DE *BACILLUS* E GÊNEROS CORRELATOS

Aluna: Maria Eduarda Deolindo Medeiros – Colégio Pedro II (Campus São Cristóvão III)

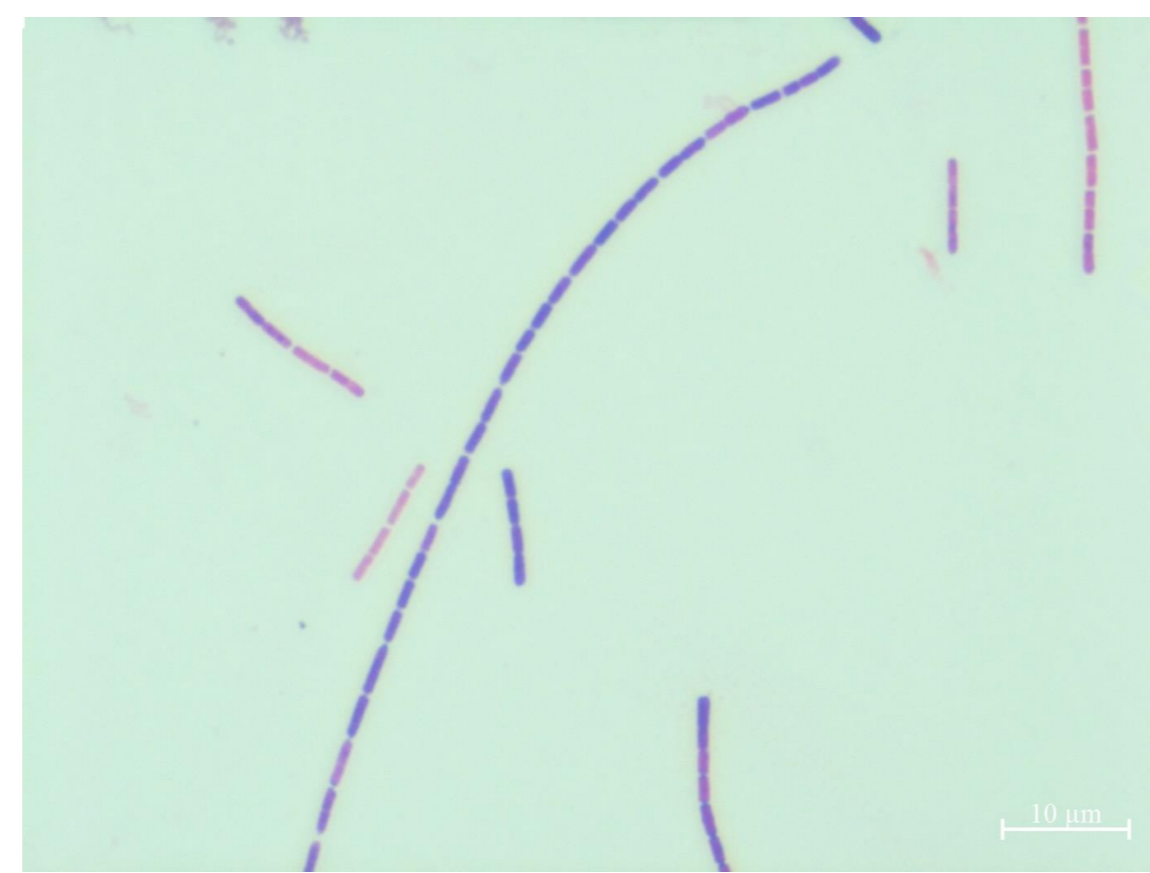
Laboratório de Fisiologia Bacteriana (LFB) – Instituto Oswaldo Cruz (IOC) - Fiocruz
Orientador: Leon Rabinovitch – Co-orientadora: Vera Cristina Pessoa

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Bacillus* e gêneros correlatos têm como característica comum a produção de esporos, também conhecidos como endósporos, em formatos variados e distintas localizações dentro da célula. Diferentemente das células vegetativas, esses esporos apresentam um mecanismo de alta resistência e conservação de informação genética (DNA), que protegem por milhares de anos contra radiação, agentes químicos e fatores ambientais, como, por exemplo, o calor extremo. Tratam-se de células diferenciadas que não são capazes de autorreplicação. Esse gênero engloba bactérias de espécies encontradas no solo, alimentos, ar, animais e seus pelos.



Bacillus thuringiensis CCGB [LFB-FIOCRUZ 584]
(Esporangio com cristal de toxina)



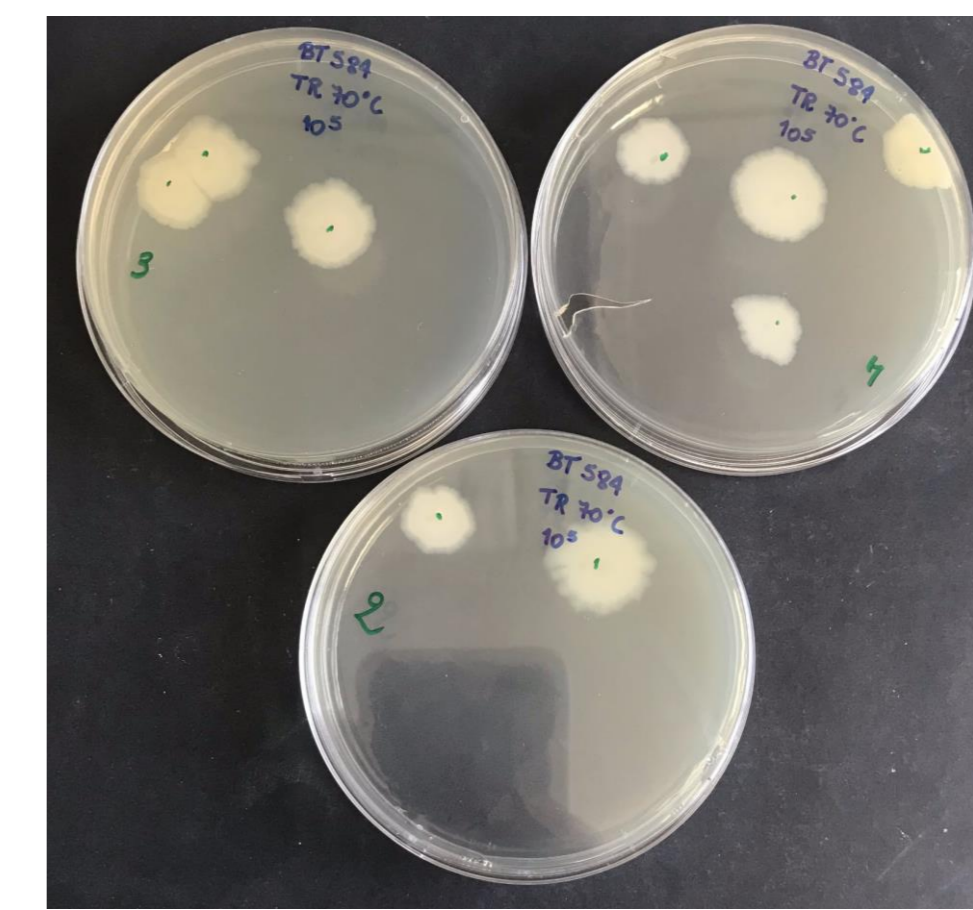
Cepa Sterne de *Bacillus anthracis*
CCGB [LFB-FIOCRUZ 1803]

METODOLOGIA

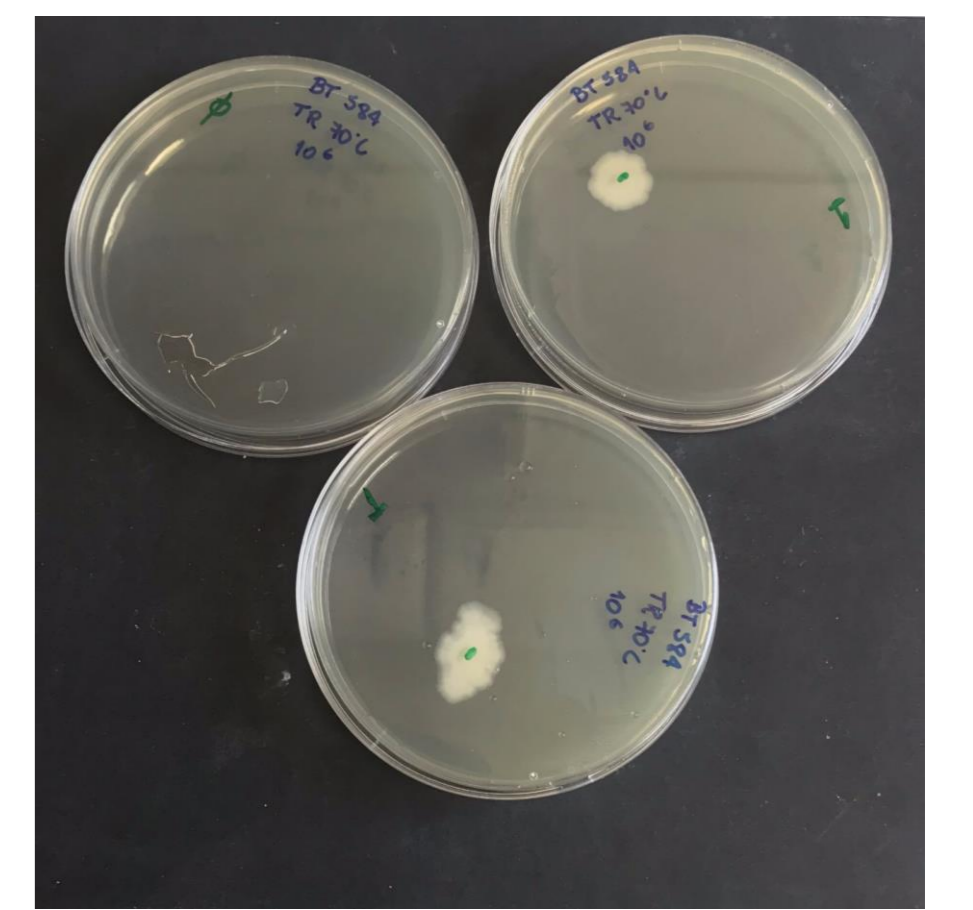
Ao longo do projeto, trabalhamos em Ágar Plate Count (PCA) para contagem das colônias de *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus atropheus*, determinando a resistência térmica dos esporos de cada espécie. Para obtermos os resultados, fizemos a termorresistência (TR) das cepas contidas em 35mL de água destilada, submetendo-as à diferentes temperaturas de 60°C, 70°C, 80°C e 100°C em banho-maria por 20 minutos. Em seguida, realizamos a diluição seriada em diferentes níveis (10^4 , 10^5 , 10^6), plaqueamos 100μL em três placas de PCA e incubamos a 33°C por 24 horas. Por fim, fotografamos e realizamos a contagem de colônias que cresceram após a exposição ao calor. Com o resultado final, podemos tabelar, comparar e confirmá-las em relação a cada espécie utilizada na presente pesquisa.



Termorresistência à 70°C de *Bacillus thuringiensis* diluída a 10^4



Termorresistência à 70°C de *Bacillus thuringiensis* diluída a 10^5

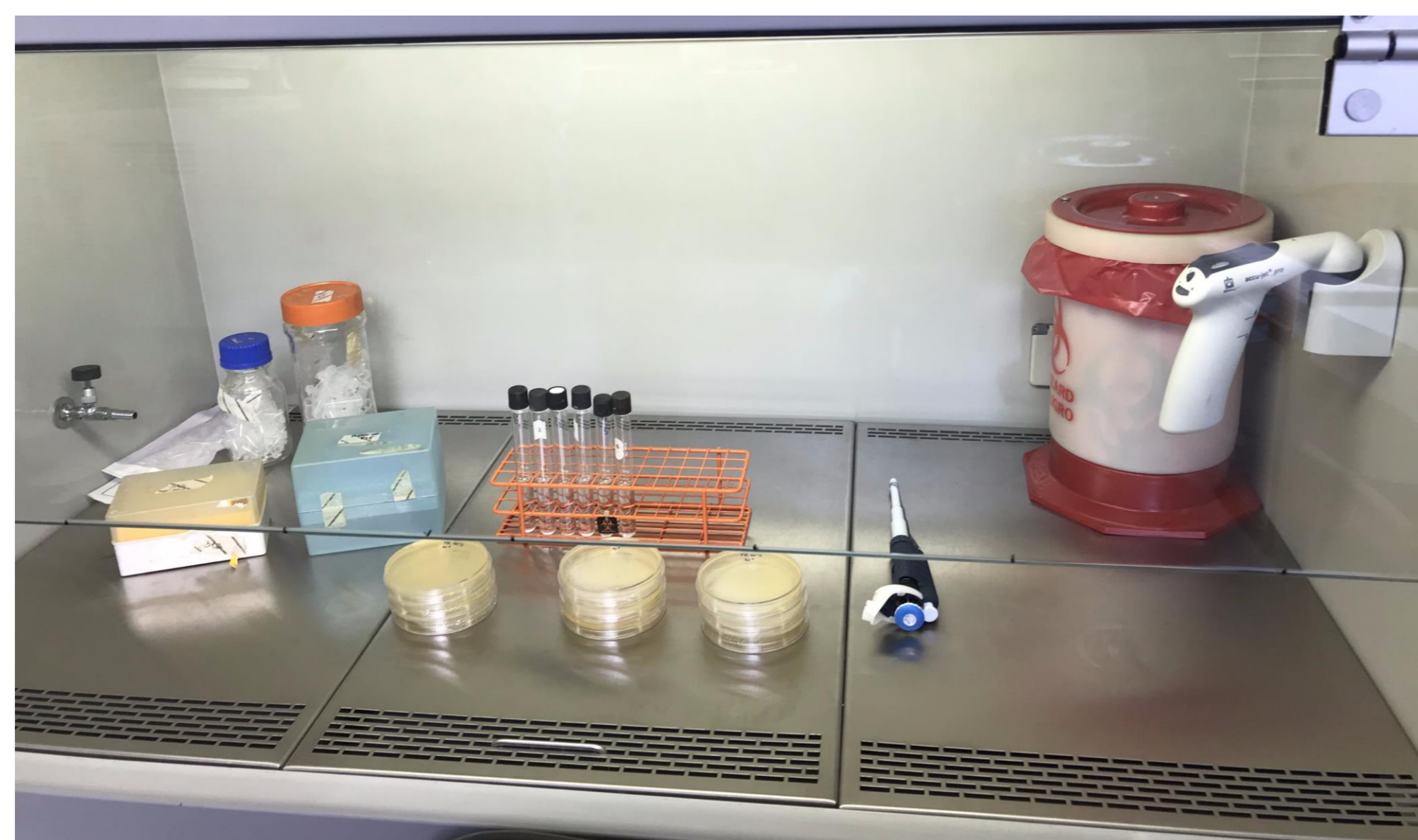


Termorresistência à 70°C de *Bacillus thuringiensis* diluída a 10^6

OBJETIVOS DA PESQUISA

Neste projeto, pretende-se realizar ensaios com diferentes endósporos de diferentes espécies de *Bacillus* e gêneros correlatos, como: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus atropheus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Lysinibacillus sphaericus* e *Brevibacillus laterosporus*, para determinar a resistência térmica dos esporos de cada espécie, a fim de verificar possíveis diferenças de comportamento ao serem aquecidos em temperaturas iguais ou superiores a 60° C. Além disso, pretendemos determinar a morfologia esporal de cada espécie, por microscopia ótica comum, e compará-las e confirmá-las em relação a cada espécie utilizada na presente pesquisa.

No final do projeto, pretendemos verificar àquelas que melhor resistem às temperaturas extremas, de modo que aquelas que suportarem as mais elevadas possam ser candidatas a virem constituir índice biológico, um tipo de indicador de temperatura a qual se atingida (por exemplo: 115°C–120°C), será indicativa de esterilização pelo calor para a coagulação de todas as enzimas dos esporos.



RESULTADOS PARCIAIS

Dos cinco microrganismos citados, apenas dois foram analisados pela metodologia mencionada: *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus atropheus*. Ambos apresentaram valores distintos na contagem de colônias após os testes realizados à 60°C e testes sem termorresistência.

Conforme o aumento da temperatura, as bactérias da espécie *Bacillus atropheus* apresentaram esporos ativos, diferentemente da *Bacillus thuringiensis* que aos poucos inativou seus esporos. A análise das demais espécies encontra-se em andamento.

Termorresistência												
1) <i>Bacillus thuringiensis</i> – LEITURA DE 24-48H												
Sem TR			TR 60°C			TR 70°C						
10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	
193	37	8	26	7	0	5	2	0				
196	42	16	34	7	0	14	3	1				
205	58	36	84	9	0	31	4	1				
			TR 80°C			TR 120°C						
			10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2) <i>B. atropheus</i> – LEITURA DE 24-48H												
Sem TR			TR 60°C			TR 70°C						
10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	
>300	>300	24	>300	244	21							
>300	239	29	>300	106	20							
233	191	49	>300	98	40							
			TR 80°C			TR 120°C						
			10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	
3) <i>Lysinibacillus sphaericus</i> – LEITURA DE 24-48H												
Sem TR			TR 60°C			TR 70°C						
10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	10^4	10^5	10^6	