



RESUMO

AVALIAÇÃO IN VITRO DA RESISTÊNCIA DE CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE SALMONELLA ENTERIDIS FRENTE A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BIGUANIDA.

AUTOR PRINCIPAL:

Josiane Costa Bergozza Zanin

E-MAIL:

josianebergozza@hotmail.com

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic CNPq

CO-AUTORES:

Luísa Neukamp Diedrich, Kristian Emanuel Kissmann, Sara Souza Gehlen, Luciéli Troian, Amauri Picollo de Oliveira, Carla Ferreira da Silva, Daniela de Ávila Bohrz, Fernando Pilotto.

ORIENTADOR:

Laura Beatriz Rodrigues

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

5.07.01.03-7 Microbiologia de Alimentos

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

A salmonelose é causada pela bactéria *Salmonella*, dos quais a *Salmonella Enteritidis* (SE) é um dos sorovares mais prevalentes. A ampla distribuição dos sorovares de *Salmonella* spp. e sua permanência no ambiente contribui para que este microrganismo assuma um papel importante na saúde pública, permanecendo como um dos mais importantes patógenos transmissores de enfermidades veiculadas através dos alimentos em todo mundo (ANDRADE, 1998). A biguanida é um princípio ativo que vem sendo utilizado como forma de sanitização, objetivando-se evitar a contaminação cruzada dos produtos durante o período de industrialização, pois visa reduzir os microrganismos até níveis seguros, garantindo ao consumidor um produto de excelente qualidade higiênico-sanitária. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia in vitro da biguanida frente a células planctônicas de *Salmonella Enteritidis* com capacidade de formação de biofilmes.

METODOLOGIA:

O trabalho foi realizado no Laboratório de Bacteriologia do HV da UPF. Avaliou-se 10 amostras de *S. Enteritidis* isoladas de alimentos e coproculturas provenientes de surtos de doenças transmitida por alimentos (DTA). As colônias puras das cepas testadas foram enriquecidas em caldo BHI e incubadas por 24 horas a $36\pm 1^\circ\text{C}$. Inoculou-se 1 mL de fonte de matéria orgânica (leite diluído 1:1000) em 9 mL de solução de biguanida (cloridrato de polihexametileno de biguanida a 3,05%) nas concentrações de 0,6%, 1,2 % e 2,0% adicionado de mais 10% para obtenção da concentração final em 10 mL. Acrescentou-se 100 L da suspensão bacteriana na diluição 1:100 em água peptonada 0,1%. Cronometraram-se os tempos de 1, 5 e 10 minutos de contato, a partir do instante exato da inoculação da amostra. Em cada momento repicou-se 10 μL para 10 mL de caldo BHI, incubados a $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. Foram considerados positivos os tubos com turvação, formação de película na superfície ou precipitado no fundo dos tubos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados obtidos nas diferentes concentrações da biguanida nos tempos de 1, 5 e 10 min encontram-se na Tabela 1. A biguanida mostrou-se eficaz frente as células planctônicas da cepa de SE nas amostras ATCC, P10, P29, P65, P72, P75, que mostraram-se sensíveis a ação do sanitizante no tempo de 10 min, sendo este o tempo preconizado pelo fabricante do produto. Na amostra P36 a biguanida não se mostrou eficaz. Silva et al., 2013, demonstrou resistência da mesma cepa para a amônia quaternária 1% no tempo de 1 minuto. Nas cepas P9, P24 e P69 ocorreram alterações que podem ser explicadas devido a dificuldade de homogeneidade de amostras microbiológicas, ou possíveis contaminações. As células planctônicas, em condições naturais, são consideradas mais sensíveis aos produtos utilizados comumente para limpeza e sanitização. A técnica in vitro para avaliação da eficácia de sanitizantes apresenta como principal vantagem o método padronizado, que permite verificar se as cepas avaliadas apresentam diferença na resistência aos desinfetantes testados (ANDRADE et al, 1998). Entretanto, a avaliação nos abatedouros in loco se faz necessária para avaliar as condições reais de aplicação dos sanitizantes. Os resultados obtidos demonstram que houve sensibilidade a biguanida pelas SE em fase planctônica. As mesmas cepas formaram biofilmes resistentes ao ácido peracético 0,5% e à amônia quaternária 1% em aço inoxidável, poliuretano e polietileno, em experimento descrito por Silva et al., 2013. As amostras de SE apresentaram-se condizentes com Gibson et al. (1999), onde houve maior sensibilidade aos sanitizantes nos testes com células planctônicas. Os resultados serão utilizados para ensaios de sensibilidade a sanitizantes em biofilmes em aço inoxidável, poliuretano e polietileno, pois a sensibilidade das bactérias aos sanitizantes de uso comum em indústrias de alimentos, quando estas compõem um biofilme, muitas vezes difere da encontrada em células planctônicas (Sinde; Carballo, 2000).

CONCLUSÃO:

A biguanida mostrou-se eficaz, in vitro, nas diluições de 0,5 a 2%, nos tempos de 10 minutos, contra células planctônicas da cepa de Salmonella Enteritidis. Observa-se que este trabalho será continuado com a avaliação deste sanitizante em biofilmes bacterianos formados em aço inoxidável, poliuretano e polietileno, e em abatedouros avícolas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANDRADE, N. et al. J. Food Protection, v. 61, n. 7, p. 833- 838, 1998.
FORSYTHE, S.J. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre, 2002.
GIBSON, H. et al. J. Applied microbiology. v. 87, p. 41-48, 1999.
JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6 ed. 2005.
SILVA, C. F. et al. ÁCIDO PERACÉTICO E AMÔNIA QUATERNÁRIA CONTRA BIOFILMES E CÉLULAS PLANCTÔNICAS DE Salmonella ENTERITIDIS. HIGIENISTAS
SINDE, E.; CARBALLO, J. Food Microbiology, v. 17, n. 4, p. 439- 447, 2000.

Tabela 1 – Avaliação *in vitro* de biguanida¹ em diferentes concentrações frente a *Salmonella* Enteritidis nos tempos de 1, 5 e 10 minutos de contato.

Tratamentos	<i>Salmonella</i> Enteritidis testadas em diferentes tempos																															
	ATCC			P9			P10			P24			P29			P36			P65			P69			P72			P75				
	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10	1	5	10		
Biguanida¹ 0,6%	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Biguanida¹ 1,2%	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Biguanida¹ 2,0%	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

1: Cloridrato de polihexametileno de biguanida a 3,05%.

 Assinatura do aluno

 Assinatura do orientador