



XXIV
Mostra
de Iniciação
Científica

SEMANA DO
CONHECIMENTO

A Universidade em movimento

De **7a10** de outubro de 2014



RESUMO

Comparação de metodologias para a remoção in vitro de biofilmes de Salmonella spp.

AUTOR PRINCIPAL:

Kristian Emanuel Kissmann

E-MAIL:

kissmann111@gmail.com

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic UPF ou outras IES

CO-AUTORES:

Bruna Webber, Amauri P. Oliveira, Raissa Canova, Eduarda Martello, Carolina G. Schemkel, Luisa N. Diedrich, Henrique P. Bilibio, Juliana Orsatto, Luciane Daroit, Luciana M. Esper, Luciana R. Santos

ORIENTADOR:

Laura Beatriz Rodrigues

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

50701037 - Microbiologia de Alimentos

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Fundo - UPF

INTRODUÇÃO:

Biofilmes são comunidades constituídas por células sésseis, mono ou multiespécies aderidas a um substrato biótico ou abiótico (DONLAN; COSTERTON, 2002). A presença de biofilmes é comum na indústria alimentícia em todos os tipos de superfícies, como plástico, vidro e metais. Essa adesão de bactérias patogênicas, como a *Salmonella* spp., nas superfícies de contato com alimentos, pode causar sérios problemas de higiene e perdas econômicas devido ao comprometimento da qualidade microbiológica, já que a salmonelose é uma das mais comuns e amplamente distribuídas doenças alimentares (ANDRADE, 2008). Métodos laboratoriais estão sendo utilizados in vitro para remoção e posterior quantificação dos biofilmes, entre eles o vortex e o ultrassom (LINDSAY; HOLY, 1997). Com esse intuito, buscou-se avaliar a eficácia de dois métodos laboratoriais, vortex e ultrassom, para remover biofilmes de *Salmonella* spp., cultivadas in vitro, em superfície de aço inoxidável proveniente de indústria de alimentos.

METODOLOGIA:

Para a formação de biofilmes utilizou-se microplacas de 12 poços, onde foram colocados 2,75mL de TSB sem glicose em cada poço com cupons de aço inoxidável estéreis e adicionados 250µL com aproximadamente 10³ UFC/mL de *S. Typhimurium* 14028, *S. Enteritidis* 13076 e uma *S. Enteritidis* isolada de alimento de surtos de DTA denominada SE106, em 6 repetições para cada microrganismo e método de remoção (37°C/24h). Para a remoção utilizou-se as metodologias do vortex (Parizzi, 2004) e ultrassom (SCHERBA et al, 1991). Cada cupom foi retirado com pinça estéril e imerso em 5mL de água peptonada (AP) a 0,1% por 1min. para remoção de células planctônicas. Após, o cupom foi transferido para outro tubo com 10mL de AP0,1% para remoção das células sésseis. No método do vortex foi agitado por 2min., e no método do banho de ultrassom foram mantidos por 10min. (frequência 40kHz, potência 81W). Diluições seriadas foram feitas e transferidas para ágar PCA para quantificação pelo método drop plate (37°C/24h).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Verificou-se que não houve diferença significativa entre os dois métodos de remoção: vortex e ultrassom ($p>0,05$). Também não houve diferença significativa entre as *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e SE P106 nas contagens da remoção do biofilme, conforme Tabela 1, o que confirma a semelhança entre os dois métodos e entre as cepas estudadas. Resultados semelhantes são citados por Lindsay & Holy (1997), estudaram a remoção de biofilme de *P fluorescens* em superfície de aço inoxidável por três diferentes métodos, incluindo o uso do vortex e do ultrassom, e não encontraram diferenças significativas. Equipamentos ultrassônicos têm sido utilizados para estimar a contaminação microbiana de superfícies. Contudo, estas devem ser pequenas e removíveis para que possam ser colocadas imersas em diluente e colocadas no aparelho ultrassônico, onde a energia gerada resultará na liberação dos microrganismos (Jay, 2005). O vórtex é uma metodologia usada em estudos de biofilmes, e atua através de movimentos típicos de turbilhão, através do efeito do movimento do fluxo da água, e como resultado remove ou reduz a adesão dos microrganismos em uma superfície (Parizzi, 2004). Apesar da semelhança entre os métodos, o ultrassom apresenta o efeito de cavitação, que é a formação de cavidades ou bolhas no meio líquido, gerando certa quantidade de gás, que pode acarretar mudança estrutural ou funcional das células devido ao rompimento de ligações moleculares (Domingos, 1998). Scherba et al. (1991) demonstraram que as propriedades hidrodinâmicas do ultrassom desestabilizam a estrutura do biofilme em uma frequência de 26kHz e, quanto maior a intensidade e o tempo de exposição, maior é a quebra do biofilme. Partindo desta premissa, apesar de não haver diferenças estatísticas, o uso do ultrassom será utilizado como padrão para o desprendimento dos biofilmes formados in vitro.

CONCLUSÃO:

Com base na contagem de microrganismos, não houve diferença significativa entre os dois métodos testados na remoção in vitro de biofilmes. Contudo, o ultrassom será utilizado como padrão para o desprendimento dos biofilmes formados e estudos posteriores com maior tempo de exposição serão necessários para analisar a eficácia desse método de remoção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANDRADE, NJ. Higiene..., 2008.
AZEVEDO, NF. et. al. Biofilmes... Porto: 2012.
DOMINGOS, RN. Contribuições e usos do ultra-som..., Tese - UNESP, 1998.
DONLAN, RM et. al. Clin. Microb. Reviews, v. 15, n. 2, p. 167-193, 2002.
JAY, JM. Microb. Alimentos, 6. ed., 2005.
LINDSAY, D et al. Food Microb. 14, 383;390. 1997.
PARIZZI, SQF. et al. J. Br. Arc. Biology and Technology, v. 47, p. 77-83, 2004.
SCHERBA, G et. al. Ap. Env. Microbiology, v. 57, n.º 7, p. 2079-2084, 1991.

INSIRA ARQUIVO.IMAGEM - SE HOUVER:

Tabela 1. Análise dos métodos vortex e ultrassom na remoção *in vitro* de biofilmes formados por *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Enteritidis* P106.

AMOSTRAS	VORTEX (log ₁₀ UFC/cm ²)	ULTRASSOM (log ₁₀ UFC/cm ²)
<i>S. Typhimurium</i>	7,0264 A a	7,6297 A a
<i>S. Enteritidis</i>	7,2717 A a	7,6831 A a
SE P106	7,1681 A a	7,2092 A a

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador