



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

FORMAÇÃO DE BIOFILME POR DIFERENTES SOROVARES DE *SALMONELLA* ISOLADAS DE ABATEDOUROS AVÍCOLAS

AUTOR PRINCIPAL: PAOLA JUCHEM

CO-AUTORES: Mandelli, J.Z.A.; Gehlen, S.S.; Aquino, N.S.M.; Bohrz, D.A.S.; Lima, E.S.; Webber, B; Rizzo, N.N.; Schenkel, C. G.; Silva, A.P.; Nascimento, V.P.; Santos, L.R.

ORIENTADOR: Laura Beatriz Rodrigues

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

A *Salmonella* spp. apresenta-se como um dos mais relevantes patógenos causadores de surtos de infecção alimentar relacionado ao consumo de carnes de aves e ovos. No Brasil, segundo o SINAN, entre os anos de 2000 a 2014, foi o principal agente etiológico causador de surtos de DTA (BRASIL, 2015). Possui a capacidade de formar biofilmes em distintas superfícies, encontrando, na indústria alimentícia, locais propícios para o seu desenvolvimento. Biofilmes são complexas comunidades mono ou multiespécies, ancoradas a uma superfície, embebidas em uma matriz constituída basicamente por substâncias poliméricas extracelulares (EPS), segundo DONLAN & COSTERTON (2002). As propriedades físico-químicas da superfície podem exercer uma forte influência sobre a adesão dos microrganismos (RODRIGUES et al., 2009). O objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade de 12 sorovares de *Salmonella* spp. formarem biofilme sob diferentes temperaturas.

DESENVOLVIMENTO:

Foram analisadas 12 amostras de *Salmonella* spp., cujos sorovares encontram-se citados na Tabela 1, concomitantemente aos locais de origem das amostras. Para avaliar a formação de biofilmes, foram utilizadas microplacas de poliestireno inerte de fundo chato com 96 cavidades, adaptando as metodologias descritas por RODRIGUES et al., 2009 e STEPANOVIC et al., 2007.

Repicou-se uma alçada dos microrganismos já isolados em 2 mL de caldo TSB sem glicose, incubando a 36°C durante 24 horas. Posteriormente, realizou-se uma suspensão bacteriana em caldo TSB sem glicose correspondendo à escala 1 de MacFarland. Foram inoculados 200 µL da suspensão bacteriana de cada amostra totalizando seis repetições, e como controle negativo foi utilizado o caldo TSB estéril para cada temperatura (3±1°C, 9±1°C, 25±1°C, 36±1°C e 42±1°C) por 24 horas. Após, foi realizada a aspiração da suspensão bacteriana da microplaca, lavando 3 vezes com 250 µL de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9%; e acrescido às placas 200 µL de metanol P.A. por 15 minutos, a fim de que seja passível a fixação das células microbianas. Foi removido o metanol e as microplacas secaram à temperatura ambiente. Foram aplicados 200 µL de cristal violeta de Hucker 2% durante 5 minutos para corar os microrganismos, sendo as placas lavadas, posteriormente, e mantidas à temperatura ambiente para secar. O biofilme foi suspenso em 300 µL de ácido acético glacial, por 15 minutos, a fim de que se assegure a homogeneidade do material corado. Por meio do aparelho de ELISA a 550 nm, realizou-se a leitura da absorbância e, posteriormente, a média aritmética dos valores de absorbância de cada amostra (DOa), sendo este comparado com a média da absorbância das cavidades com TSB estéril não inoculado (DO). Para determinar o grau de aderência, utilizou-se a seguinte classificação: DOa ≤ DO (não aderente); DO < DOa ≤ 2DO (fracamente aderente); 2DO < DOa ≤ 4DO (moderadamente aderente) e 4DO < DOa (fortemente aderente). Na Tabela 2 encontram-se especificados os graus de aderência para cada sorovar de *Salmonella* spp. de acordo com as respectivas temperaturas. Dentre todos os sorovares, nenhum se apresentou como fortemente aderente, entre todas as temperaturas. Os sorovares estudados, em sua maioria, demonstraram-se fracamente aderentes ao poliestireno. Destaca-se na temperatura de 25°C, semelhante à temperatura ambiente, onde se observou moderada aderência em 50% dos isolados, representando, assim, a temperatura na qual houve maior grau de aderência.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Os dados obtidos denotam extrema importância, pois os sorovares de *Salmonella* spp. demonstraram capacidade de permanência nos ambientes de manipulação dos abatedouros avícolas e nos próprios alimentos na forma de biofilmes. Portanto, representa um importante problema de saúde pública, devido à facilidade de transmissão e por ser um dos patógenos mais importantes nos surtos de origem alimentar.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. SINAN – Vigilância Epidemiológica de DTA. Acesso em set 2015.
- DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical microbiology reviews**, v. 15, n. 2, p. 167–93, abr. 2002.
- RODRIGUES, L. B. et al. Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. December 2008, p. 225–230, 2009.
- STEPANOVIC, S. et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. **APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica**, n. 8, 2007.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Não foi necessário, visto que não utilizou-se o modelo animal.

ANEXOS

Tabela 1: Identificação dos sorovares de *Salmonella* spp. e locais de origem das amostras.

Sorovares de <i>Salmonella</i> spp.	Origem
S. Brandenburg	Carcaça após higienização
S. Anatum	Swab de cloaca
S. Tennessee	Carcaça congelada por 24 horas
S. Agona	Esponja de gaiola de transporte após higienização
S. Bredeney	Swab de cloaca
S. Schwarzengrund	Swab de cloaca
S. Infantis	Esponja de gaiola de transporte após higienização
S. Rissen	Swab de cloaca
S. Lexington	Esponja de gaiola de transporte após higienização
S. Panama	Swab de cloaca
S. Typhimurium	ATCC 14028
S. Gallinarum	Carcaça congelada por 60 dias

Tabela 2: Aderência de sorovares de *Salmonella* spp. ao poliestireno.

Sorovares de <i>Salmonella</i> spp.	Adesão ao poliestireno				
	3°C	9°C	25°C	36°C	42°C
S. Brandenburg	Fraca	Fraca	Moderada	Fraca	Fraca
S. Anatum	Fraca	Moderada	Fraca	Fraca	Moderada
S. Tennessee	Fraca	Fraca	Moderada	Fraca	Fraca
S. Agona	Não aderente	Não aderente	Fraca	Não aderente	Não aderente
S. Bredeney	Fraca	Fraca	Moderada	Fraca	Fraca
S. Schwarzengrund	Fraca	Moderada	Moderada	Fraca	Fraca
S. Infantis	Fraca	Moderada	Moderada	Fraca	Fraca
S. Rissen	Não aderente	Não aderente	Fraca	Não aderente	Fraca
S. Lexington	Não aderente	Não aderente	Fraca	Não aderente	Fraca
S. Panama	Moderada	Fraca	Moderada	Fraca	Não aderente
S. Typhimurium	Fraca	Fraca	Fraca	Moderada	Fraca
S. Gallinarum	Não aderente	Não aderente	Não aderente	Fraca	Fraca