

III SEMANA DO CONHECIMENTO

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

BIOFILMES MULTIESPÉCIES POR *Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* E *Escherichia coli* EM POLIETILENO E EFEITOS DE PROCEDIMENTOS DE HIGIENIZAÇÃO

AUTOR PRINCIPAL: Luiza Inês Seibel.

CO-AUTORES: Sara Sousa Gehlen, Bruna Webber, Nathanyelle Soraya Martins de Aquino, Kristian Emanuel Kissmann, Suelen Priscila Santos, Luciane Manto, Emanuele Serro Pottker, Natalie Nadin Rizzo, Isabel Cristina Cisco, Luciane Daroit, Luciana Ruschel dos Santos.

ORIENTADOR: Laura Beatriz Rodrigues.

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo.

INTRODUÇÃO:

A carne de frango pode servir de veículo para microrganismos como *Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, entre outros, capazes de desencadear doenças transmitidas por alimentos (WHO, 2015). Estes patógenos podem formar biofilmes em superfícies de processamento de alimento, como no polietileno, componente das placas de corte de frigoríficos, e agem como pontos de contaminação constantes (Azevedo & Cerca, 2012). Sabe-se que biofilmes são mais resistentes à ação de procedimentos de higienização realizados nas indústrias, que consistem no uso de água quente, detergentes e sanitizantes (Costerton et al., 1995). Quando associados em biofilmes de espécies mistas, microrganismos poderão ter interações de cooperação que beneficiam seu crescimento e aumentam sua capacidade de sobrevivência no ambiente (Giaouris et al., 2015). Avaliou-se a capacidade destas 4 bactérias formarem biofilme em polietileno e os efeitos de procedimentos de higienização.

DESENVOLVIMENTO:

Analisou-se uma cepa de *Salmonella* Enteritidis (SE24), isolada de surto de DTA, uma de *Escherichia coli* (C7), uma de *Listeria monocytogenes* (L4), isoladas de frigorífico de aves, e uma de *Campylobacter jejuni* (CJ134), de carcaças. Para mensurar a adesão, cupons de polietileno (1 cm²), foram imersos em caldo TSB sem glicose com a devida cultura bacteriana, incubados a 42±1°C, 36±1°C, 25±1°C, 9±1°C e 3±1°C, simulando as temperaturas do ambiente

III SEMANA DO CONTECIMENTO

3 a 7 DE OUTUBRO
2016

de processamento, nos tempos de 4, 12 e 24 horas. Depois da formação do biofilme os cupons foram sonicados por 10 minutos e, após diluições foram transferidas para placas contendo meios de cultura seletivos (ágar mCCDA; ágar EMB; ágar XLD; ágar Listeria Palcam). As contagens foram feitas pelo método Drop plate (24h/37°C). As placas de mCCDA foram incubadas sob condições de microaerofilia (56h/42°C). Para os tratamentos de higienização os cupons permaneceram por 3 minutos em água quente a 85°C, e 10 minutos nas soluções de hipoclorito de sódio 2% e peróxido de hidrogênio 0,3%. Os ensaios foram realizados em triplicata.

As cepas de SE24, C7 e L4 formaram biofilmes nas diferentes condições ambientais (**Figura 1**). O *Campylobacter jejuni* não pôde ser quantificado, devido seu caráter fastidioso e diante de condições extremas, esse pode passar para o estado “viável, mas não-cultivável” (Manuzon & Wang, 2007).

De acordo com Ronner & Wong (1993), para caracterizar a formação de biofilme são necessários um número mínimo 10^3 UFC aderidas por cm^2 ($3 \log^{10} \cdot \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$). Obtivemos média de formação de biofilmes multiespécies de $4,673 \log_{10} \cdot \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$ em todas as temperaturas (**Figura 2**).

A SE24 e a C7 aderiram semelhante no polietileno nas temperaturas testadas ($P=0,968$). Polímeros, como o polietileno, são utilizados devido ao baixo custo, resistência a oxidação e atoxicidade. Contudo, este material possui imperfeições o que proporciona maior adesão de microrganismos e dificulta a ação dos desinfetantes (Steenackers et al., 2012).

Obtivemos formação de biofilmes multiespécies em todas as temperaturas (**Figura 1**). Apesar de *L. monocytogenes* ter característica de se multiplicar em baixas temperaturas, esta cepa aderiu apenas a 9°C, enquanto que *E. coli* e SE aderiram a 3°C e 9°C. Até então, estas temperaturas de refrigeração não foram descritas como propícias para o desenvolvimento de biofilmes multiespécies por estes microrganismos.

L. monocytogenes, *E. coli* e SE aderiram nas temperaturas de 25°C, 36°C e 42°C, revelando que biofilmes também são formados nas temperaturas ótimas para mesófilos (36°C), temperatura de termotolerância e ótima para *C. jejuni* (42°C) e em temperatura ambiente (25°C).

O sanitizante hipoclorito de sódio a 2% e a água quente a 85°C foram os mais eficazes na remoção no polietileno, reduzindo $3,85 \log_{10} \cdot \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$ e $3,911 \log_{10} \cdot \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$, respectivamente. Os resultados estão de acordo com os padrões exigidos pela PAHO/WHO, com exceção do peróxido de hidrogênio (redução de $1,955 \log_{10} \cdot \text{UFC} \cdot \text{cm}^{-2}$) (**Figura 2**).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O polietileno propicia a aderência de biofilmes multiespécies sob todas as temperaturas. Ressalta-se a formação em temperaturas de refrigeração, ambiente das salas de cortes, onde estão as placas de polietileno, possibilitando a contaminação cruzada. O hipoclorito de sódio 2% e a água aquecida a 85°C foram os melhores tratamentos, já o peróxido de hidrogênio 0,3% não foi eficaz nos biofilmes.

Universidade e comunidade
em transformação

3 a 7 DE OUTUBRO
DE 2016

III SEMANA DO CONHECIMENTO

REFERÊNCIAS:

- AZEVEDO, N. F.; CERCA, N. **Biofilmes: na Saúde, no Ambiente, na Indústria.** 2012.
- COSTERTON, J. W. et al. Microbial biofilms. **A. R. of Microbiology.** v. 49, 711-745, 1995.
- GIAOURIS, G. **Biofilms in the Food Environment.** 2015.
- MANUZON, M. Y.; WANG, H. H. **Biofilms in the Food Environment.** 2007.
- PAHO. Pan American Health Association. <http://www.paho.org>. 2001.
- RONNER, A. B., WONG, A. C. L. Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on stainless steel. **Journal of Food Protection.** (56), 750-758. 1993.
- STEENACKERS, H. et al. Salmonella biofilms. **Food Res. Intern.** 45 (2), 502–531, 2012.
- WHO.2015. **Foodborne disease.**
Disponível:http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf?ua

ANEXOS:



Figura 1. Formação total de biofilmes multiespécies por *S. Enteritidis* (SE24), *E. coli* (C7) e *L. monocytogenes* em polietileno sob diferentes temperaturas e procedimentos de higienização no decorrer de 24 horas.

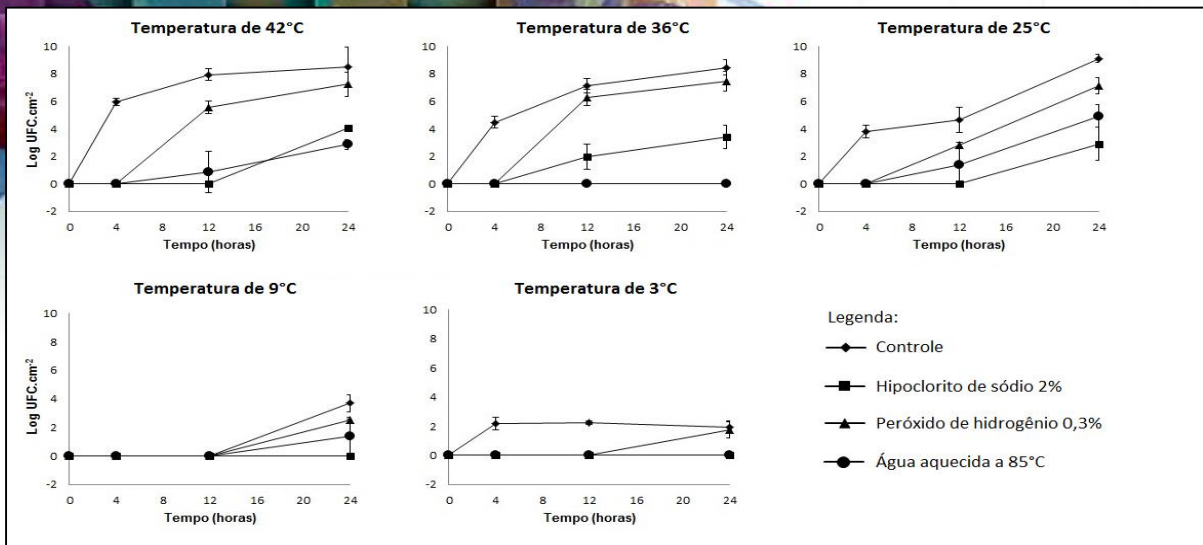


Figura 2. Formação de biofilmes multiespécies e efeitos dos procedimentos de sanitização. a) Somatório total da formação e remoção dos biofilmes multiespécies formado por *S. Enteritidis* (SE24) *L. monocytogenes* (L4), *E. coli* (C7) em polietileno; b) Média de formação e remoção dos biofilmes multiespécies por microrganismo.

