

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Experiência

Relato de Caso

Ação *in vitro* de bactérias ácido lácticas frente a *Salmonella* Heidelberg multirresistente e formadora de biofilmes

AUTOR PRINCIPAL: Rafael Levandowski

CO-AUTORES: Luciane Manto; Enzo Mistura; Bruna Webber; Aline Passos; Adele Stein Kuhn; Lucas Karpinski Risson.

ORIENTADOR: Luciana Ruschel dos Santos

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo - UPF

INTRODUÇÃO

Salmonella spp., assim como outras bactérias, tem capacidade de formar biofilmes. A capacidade de formar biofilme é provocada por alterações fenotípicas e genotípicas das células de vida livre ou planctônicas, o que pode ser descrito como uma estratégia de sobrevivência dos microrganismos em ambientes sob condições adversas. Os microrganismos na forma de biofilmes são mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos utilizados em procedimentos de higienização (1).

Uma estratégia promissora para o controle de biofilmes é o uso de probióticos para colonizar superfícies, a fim de conter a proliferação de outras espécies bacterianas, com base no princípio de exclusão competitiva. Esse conceito ficou conhecido como “biocontrole” quando aplicado com ação antagonista a um determinado agente patogênico (2).

Assim, neste trabalho foram avaliadas diferentes BALs e sua ação na inibição ou competição na formação de biofilme por *Salmonella* Heidelberg em superfície de poliestireno.

DESENVOLVIMENTO:

As Bactérias Ácido Lácticas (BAL) foram adquiridas de laboratórios especializados a partir de cepas comerciais liofilizadas: *Lactobacillus salivarius*, *L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. reuteri*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subesp. bulgaricus*. As cepas foram reativadas e identificadas pelas características fenotípicas, morfológicas e bioquímicas.

A cepa de *Salmonella* Heidelberg 212 (SH212), cedida pelo Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da UFRGS, foi proveniente de produto final de matadouro-frigorífico avícola, isolada em 2015 e sorotipificada pela Fiocruz. A SH212 foi selecionada para este trabalho devido estudos anteriores do grupo de pesquisa demonstrarem características de multirresistência a antimicrobianos, forte formação de biofilme e presença de 19 genes de virulência e patogenicidade relacionados com o gênero *Salmonella* (3).

Os ensaios de inibição e competição de adesão de SH212 em microplacas pelas BALs foram realizados com cada uma das BALs e com um pool constituído por proporções iguais das nove BALs, conforme metodologia adaptada de Gong & Jiang (4). A porcentagem de inibição e competição de adesão de SH212 foi calculada conforme Gong & Jian (4).

$$\% \text{inibição ou competição} = \frac{\text{DO controle} - \text{DO Tratamento}}{\text{DO Controle}} \times 100\%$$

No ensaio de Inibição de Adesão de SH212 por BALs, obtivemos resultados quando analisados os comprimentos de ondas da leitura (DO550 e DO595 nm) em relação ao ambiente de crescimento e quando relacionado com a BAL de estudo. Foi verificada redução na leitura de DO 550 nm, quando comparadas as bactérias (BALs) com o ambiente de cultivo (aerofilia e microaerofilia); tendo como resultado maior redução nas BALs 4 (*Lactobacillus reuteri*), 6 (*L. fermentum*) e 8 (*L. acidophilus*) em aerobiose e microaerofilia (Tabela 1).

No ensaio de competição por adesão entre as BALs e a SH212, quando comparados os ambientes (aerobiose e microaerofilia) não se obteve diferença entre os dados analisados, por isso, neste ensaio utilizamos apenas a DO 550 nm para as análises. Quando analisado os ambientes (aerobiose e microaerofilia) em relação às bactérias BALs do estudo obteve-se diferença nas porcentagens de redução da adesão de *Salmonella* Heidelberg 212 na superfície de poliestireno. Em aerobiose a maior taxa de redução ocorreu com a BAL 4 (*L. reuteri*), e as demais BALs mantiveram uma taxa de redução equivalente, ficando entre 47% a 69%, não apresentando diferença significativa. Já no ambiente de microaerofilia, a maior porcentagem de redução ocorreu nas BAL 5 (*L. paracasei*), 9 (*L. delbueckii sub. bulgaricus*) e no POOL2 (Tabela 2)

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

As BALs podem ser consideradas uma opção para controle da adesão em superfície de poliestireno da SH212, pois apresentam a capacidade de inibir e competir pela fixação de células em superfícies, reduzindo a sua capacidade de formar biofilme. Uma possível sugestão para seu uso seria a aplicação prévia sobre as superfícies da indústria que apresentam poliestireno.

REFERÊNCIAS

1. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284 (5418):1318-22.
2. Falagas ME and Makris GC. Probiotic bacteria and biosurfactants for nosocomial infection control: a hypothesis. *J. Hosp. Infect.* 2009; 71:301-6.
3. BORGES KA. et al. Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of *Salmonella* Enterica Serotypes Isolated from Poultry Sources in Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v. 21, n. 1, 2019.
4. Gong C, Jiang X. Application of bacteriophages to reduce *Salmonella* attachment and biofilms on hard surfaces. *Poultry Sci.* 2017; 0:1–11.

ANEXOS

Tabela 1 - Teste de Inibição por Adesão em superfície de poliestireno das BALs frente a *Salmonella* Heidelberg 212.

| Bactérias Ácido | Aerobiose | | Microaerofilia | |
|-----------------|-----------|--------|----------------|-----------|
| | DO 550 | DO 595 | DO 550 | DO 595 |
| Láticas | | | | |
| BAL 1 | 61,22cde | 62,65a | 53,58abc | 44,35ab |
| BAL 2 | 60,14cd | 59,21a | 63,29cde | 53,56a |
| BAL 3 | 63,47cde | 60,40a | 59,94cd | 53,83a |
| BAL 4 | 71,65e | 69,77a | 66,70de | 53,10a |
| BAL 5 | 60,66cd | 55,04a | 54,98abc | 46,81ac |
| BAL 6 | 67,02de | 62,82a | 63,60cde | 57,10a |
| BAL 7 | 59,46cd | 62,96a | 48,18ab | 50,33a |
| BAL 8 | 66,96de | 65,49a | 69,52de | 59,49abcd |
| BAL 9 | 63,58cde | 54,44a | 63,31cde | 53,90a |
| POOL 1 | 47,22ac | 57,48a | 62,13de | 53,98a |
| POOL 2 | 58,87bcd | 54,62a | 54,66abc | 48,67ad |

Tabela 2 - Teste de competição por adesão em superfície de poliestireno das BALs frente a *Salmonella* Heidelberg 212.

| Bactérias Ácido | Aerobiose | Microaerofilia |
|-----------------|-----------|----------------|
| | DO 550 | DO 550 |
| Láticas | | |
| BAL 1 | 70,68bcd | 50,25ab |
| BAL 2 | 72,81cd | 55,04abc |
| BAL 3 | 74,20cd | 66,14abcd |
| BAL 4 | 69,78abcd | 65,19abcd |
| BAL 5 | 74,73cd | 69,76abcd |
| BAL 6 | 66,39abcd | 59,25abcd |
| BAL 7 | 70,26abcd | 61,53abcd |
| BAL 8 | 62,47abcd | 60,51abcd |
| BAL 9 | 61,18abcd | 64,95abcd |
| POOL 1 | 70,84bcd | 47,19a |
| POOL 2 | 77,26d | 63,43abcd |