



RESUMO

Salmonella ENTERITIDIS: FORMAÇÃO DE BIOFILME EM POLIESTIRENO POR CEPAS DE ORIGEM AVÍCOLA

AUTOR PRINCIPAL:

Bruna Pissolato

E-MAIL:

bruna.pissolato@bol.com.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Probic Fapergs

CO-AUTORES:

Luisa Neukamp Diedrich, Patricia Bulla, Douglas Albarello Luza, Isadora Folchini, Amauri Picollo de Oliveira, Gustavo Perdoncini, Vladimir Pinheiro do Nascimento, Luciana Ruschel dos Santos

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 - UPF

INTRODUÇÃO:

A salmonelose é causada pela bactéria *Salmonella*, dos quais a *Salmonella* Enteritidis é um dos sorovares mais prevalentes nas Américas. No Brasil, a SE foi o mais isolado em humanos e alimentos, de 2001 a 2008 e um dos principais em animais, rações e amostras ambientais. Em 2008, de 793 amostras de *Salmonella* spp. provenientes de humanos sorotipificadas pela FIOCRUZ, 506 amostras (63,8%) eram *S. Enteritidis* (WHO, 2011). Um biofilme bacteriano consiste em um crescimento de células que se aderem a uma superfície, embebida em uma matriz extracelular formada por exopolissacarídeos, que exibe um fenótipo alterado quanto ao seu crescimento, expressão gênica e produção de proteínas (COSTERTON et al., 1995). O objetivo deste trabalho foi verificar a habilidade de *Salmonella* Enteritidis (SE) de origem avícola formar biofilme em poliestireno, sob incubação em diferentes temperaturas ($36\pm 1^\circ\text{C}$, $25\pm 1^\circ\text{C}$, $9\pm 1^\circ\text{C}$, $3\pm 1^\circ\text{C}$).

METODOLOGIA:

Foram analisadas 15 amostras de SE, previamente isoladas entre 2003 e 2009, provenientes de materiais de origem avícola, como cortes de frango, órgãos de aves e swabs de arrasto. A cepa padrão utilizada foi a *S. Enteritidis* ATCC 13076. A metodologia foi baseada nas técnicas descritas por Stepanovic et al. (2004). O ensaio teve como princípios básicos a inoculação dos isolados em caldo TSB sem glicose, incubação a $36\pm 1^\circ\text{C}$, $25\pm 1^\circ\text{C}$, $9\pm 1^\circ\text{C}$ e $3\pm 1^\circ\text{C}$, diluição, inoculação da suspensão bacteriana em placas de microtitulação de poliestireno de 96 cavidades de fundo plano em triplicata, incubação, remoção do inóculo, lavagem das cavidades, fixação, coloração e leitura da densidade óptica por absorbância em leitor de ELISA a 550 nm. Após cálculo, como resultado, a amostra foi classificada em: não formadora de biofilme (DoaDocn), fracamente formadora de biofilme (Docn<Doa2.Docn), moderadamente formadora de biofilme ($2.\text{Docn}<\text{Doa}4.\text{Docn}$) e fortemente formadora de biofilme ($4.\text{Docn}<\text{Doa}$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nas quatro temperaturas testadas, a maioria das amostras foram capazes de formar biofilme, com 75% dos resultados como fracamente formadoras de biofilmes, 15% moderadamente formadoras e apenas 1% fortemente formadoras. Entretanto, 9 % das amostras não formaram biofilmes (Tabela 1). A adesão bacteriana pode ser dividida em dois estágios, primária e secundária. O primeiro estágio é reversível e é determinado por variáveis físico-químicas, como as interações hidrofóbicas, forças eletrostáticas, forças de van der Waals, temperatura e forças hidrodinâmicas, que vão determinar a adesão entre as duas superfícies, a célula bacteriana e a superfície de interesse. Na adesão secundária, irreversível, o microorganismo consolida sua adesão através da produção de um complexo exopolissacarídeo e/ou ligando receptores específicos presentes nas pilis com a superfície do material (COSTERTON et al., 1995). Do ponto de vista da segurança alimentar, os biofilmes são importantes devido à sua formação em alimentos, utensílios e superfícies e à sua dificuldade de remoção (FORSYTHE, 2002), mas também em ambientes avícolas, como incubatórios e aviários. Pissolato et al (2011) avaliou a formação de biofilme a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $9\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $3\pm 1^{\circ}\text{C}$, por 62 amostras de *S. Enteritidis* provenientes de alimentos causadores de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) e, nas quatro temperaturas testadas, todas as amostras foram capazes de formar biofilme, com 30% das amostras de SE causadoras de DTA moderadamente formadoras e 5% fortemente formadoras de biofilme em todas as temperaturas, inclusive a $3\pm 1^{\circ}\text{C}$. Contrapondo os resultados obtidos com amostras de origem avícola (a maioria das amostras fracamente formadoras e 9 % das amostras não formadoras de biofilmes) e as oriundas de surtos de DTA, podemos supor que a capacidade de formação de biofilmes pode ser um dos fatores relacionados a surtos de doenças de origem alimentar.

CONCLUSÃO:

As cepas de *S. Enteritidis* de origem avícola apresentaram capacidade de formar biofilmes, mas a maioria das amostras foram fracamente formadoras e 9 % de amostras não formadoras de biofilmes. Denota-se a necessidade de maiores pesquisas, inclusive com avaliação molecular, para comparação das amostras de origem avícola e as de surto de DTA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- COSTERTON, J.W. et al. *An. Rev. Microb.*, v. 49, p. 711-745. 1995.
FORSYTHE, S.J. *Microb. da segurança alimentar*. Poa: Artmed, 2002.
GAST, R. K. In: SAIF, Y.M. (Ed) *Dis. of Poultry*. 12.ed. 2008. p.636-665.
PISSOLATO, B. et al. *FORMAÇÃO DE BIOFILME... MIC* 2011.
RODE, T.M. et al. *Int. J. Food Microb.*, v.116, p.372-383, 2007.
RODRIGUES, L. B. et al. *Acta Scientiae Vet.*, v.37, p. 225-230, 2009.
STEPANOVIC, S. et al. *Let. in App. Microb.*, v.38, p. 428-432, 2004.
WHO. GFN. In: <http://www.who.int/gfn/>

Tabela 1 - Formação de biofilme em poliestireno sob diferentes temperaturas por *Salmonella* Enteritidis de origem avícola.

Temperaturas testadas	Não formadoras de biofilme	Fracamente formadoras de biofilme	Moderadamente formadoras de biofilme	Fortemente formadoras de biofilme	Total de amostras
36°	2	12	1	1	16
25°	2	11	3	0	16
9°	2	11	3	0	16
3°	0	14	3	0	16
Total %	9%	75%	15%	1%	100%

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador