



RESUMO

Salmonella ENTERITIDIS: FORMAÇÃO DE BIOFILME EM AÇO INOXIDÁVEL, POLIURETANO E POLIETILENO E SUA RESISTÊNCIA A SANITIZANTES

AUTOR PRINCIPAL:

PATRICIA BULLA

E-MAIL:

109757@upf.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Pibic CNPq

CO-AUTORES:

Bruna Pissolato, Luisa Diedrich, Douglas Luza, Isadora Folchini, Amauri Oliveira, Carlos Costa, Florindo Castoldi, Gustavo Perdoncini, Eduardo Tondo, Vladimir Nascimento, Luciana Ruschel dos Santos

ORIENTADOR:

Laura Beatriz Rodrigues

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

ÁREA CNPQ 5.07.01.03-7 Microbiologia de Alimentos

UNIVERSIDADE:

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

INTRODUÇÃO:

A salmonelose é uma das principais doenças transmitidas por alimentos. O sorovar *Salmonella* Enteritidis (SE) é um dos mais prevalentes, e a mais isolada em humanos e alimentos no Brasil e a principal causadora das salmoneloses alimentares investigadas no Rio Grande do Sul. A formação de biofilmes por *Salmonella* em superfícies que entram em contato com os alimentos pode contribuir com os surtos de infecções alimentares. A sensibilidade das bactérias aos sanitizantes de uso comum em indústrias de alimentos, quando estas compõem um biofilme, muitas vezes difere da encontrada em testes com células planctônicas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de *Salmonella* Enteritidis isoladas de surtos de doenças alimentares e de materiais de origem avícola formar biofilme em aço inoxidável, poliuretano e polietileno e a sensibilidade destes frente aos sanitizantes ácido peracético e amônia quaternária.

METODOLOGIA:

Avaliou-se 20 amostras de SE isoladas entre 2006 e 2009 (10: surtos de DTA-alimentos de origem avícola, coprocultura de pacientes/10: origem avícola-cortes, órgãos de aves necropsiadas, swabs de arrasto) e a *S. Enteritidis* ATCC 13076. Corpos de prova (triplicata: aço inoxidável AISI 316, poliuretano e polietileno, de 4 cm²), foram imersos em 25 mL de TSB com cerca de 10⁸ UFC/mL de cada amostra (36±1°C/24h). A área foi coletada com swab e inoculando em Agar PCA (36±1°C/24h), e resultados em log₁₀UFC.cm⁻². Após incubação, os corpos de prova foram submersos por 5min. em 10mL de ácido peracético 0,5% e 10 mL de amônia quaternária 1%, lavados com solução neutralizante, coletados com swab e inoculados em Agar PCA (36±1°C/24h), com resultados em log₁₀UFC.cm⁻² (Kusumaningrum et al., 2003; Gibson et al., 1999). Os resultados foram analisados por ANOVA e teste Tukey. A microtopografia antes e depois dos sanitizantes foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Souza, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

A maior contagem de SE aderidas a superfície dos cupons, formando biofilmes, foi na superfície aço inoxidável, onde não houve diferença estatística entre os resultados após a incubação e antes dos sanitizantes (4,814 log₁₀UFC.cm⁻²), após a amônia quaternária (4,829 log₁₀UFC.cm⁻²), e após o ácido peracético (4,649 log₁₀UFC.cm⁻²). Nos cupons de poliuretano houve redução das contagens após os sanitizantes, apresentando 3,407 log₁₀UFC.cm⁻² antes, 1,760 log₁₀UFC.cm⁻² após a amônia quaternária e 1,911 log₁₀UFC.cm⁻² após o ácido peracético, mas sem diferença estatística entre a ação dos sanitizantes. Na superfície polietileno houve a menor contagem de SE, mas não houve diferença estatística entre os resultados antes dos sanitizantes (1,942 log₁₀UFC.cm⁻²), após a amônia quaternária (1,380 log₁₀UFC.cm⁻²), e após o ácido peracético (1,557 log₁₀UFC.cm⁻²), dados descritos na Tabela 1. Nenhum dos sanitizantes inibiu totalmente o crescimento das SE nas superfícies testadas. Na comparação entre superfícies, o aço inoxidável apresentou a maior contagem de SE antes e após os sanitizantes, com diferença estatística em relação ao poliuretano e ao polietileno. Após o uso dos sanitizantes, não houve diferença entre o poliuretano e o polietileno. Nas fotos de MEV podem ser visualizadas as formações de biofilmes nas diferentes superfícies, corroborando os resultados apresentados de contagem por microbiologia convencional (Figuras 1, 2 e 3). Os resultados obtidos demonstram que houve maior resistência aos sanitizantes pelas amostras de SE em estágio de formação de biofilme, pois as mesmas cepas, quando testadas em fase planctônica frente ao ácido peracético 0,5% e à amônia quaternária 1%, apresentaram sensibilidade a ambos, com ausência de crescimento in vitro, conforme descrito por Luza, 2012. As amostras de SE estudadas apresentaram-se condizentes com Gibson et al. (1999), pois houve maior resistência aos sanitizantes nos testes com aderência e formação de biofilmes em superfícies.

CONCLUSÃO:

As amostras de SE testadas formaram biofilmes resistentes ao ácido peracético 0,5% e à amônia quaternária 1% em aço inoxidável, poliuretano e polietileno. Esta pesquisa apresenta grande relevância devido ao risco de contaminação dos consumidores de carne de frango, pois estes materiais e sanitizantes são comumente utilizados em abatedouros avícolas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

GIBSON, H. et al. Journal of applied microbiology. v. 87, p. 41-48, 1999.

KUSUMANINGRUM, H. D., et al. International Journal of Food Microbiology, v. 83, n. 3, p. 227-236, 2003.

LUZA, D. A. et al. Salmonella ENTERITIDIS: AVALIAÇÃO DA AÇÃO IN VITRO DE ÁCIDO PERACÉTICO E AMÔNIA QUATERNÁRIA CONTRA CÉLULAS PLANCTÔNICAS MIC 2012.

SOUZA, W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas. Rio de Janeiro: Sociedade de Microscopia Eletrônica, 1998. 179p.

Tabela 1. Formação de biofilme em aço inoxidável, poliuretano e polietileno por *Salmonella* Enteritidis.

| Superfícies | Procedimentos de Higienização | | |
|----------------|-------------------------------|--------------------|------------------|
| | Antes | Amônia Quaternária | Ácido Peracético |
| Aço inoxidável | a 4,814A | a 4,829A | a 4,649A |
| Poliuretano | a 3,407B | b 1,760B | b 1,911B |
| Polietileno | c 1,942C | c 1,380B | c 1,557B |

Médias com a mesma letra minúscula, na linha, e mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

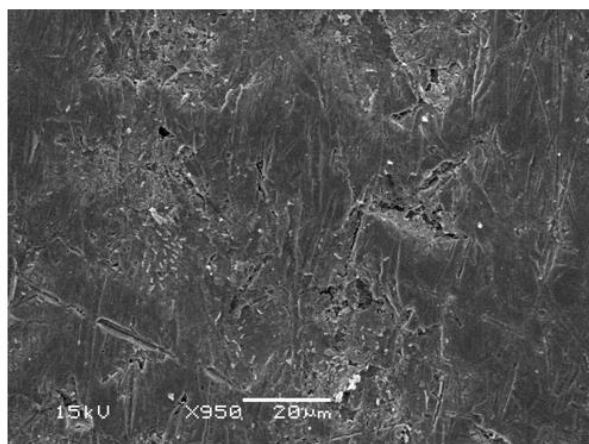


Figura 1: Superfície de aço inoxidável com formação de biofilme por *S. Enteritidis*, após sanitizante.

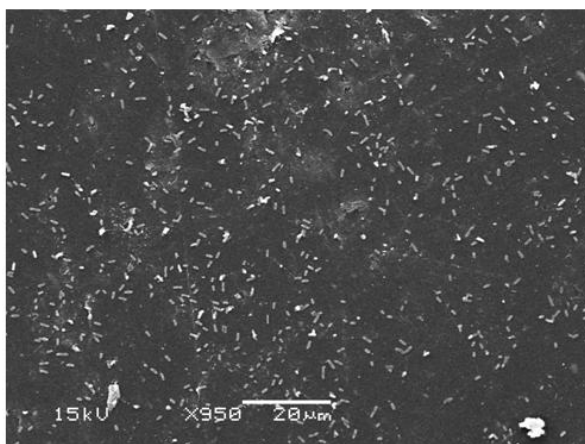


Figura 2: Superfície de poliuretano com formação de biofilme por *S. Enteritidis*, antes dos sanitizantes.

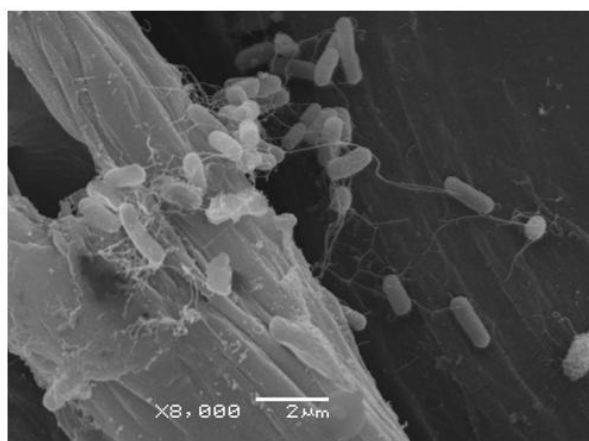


Figura 3: Superfície de polietileno com formação de biofilme por *S. Enteritidis*, antes dos sanitizantes.

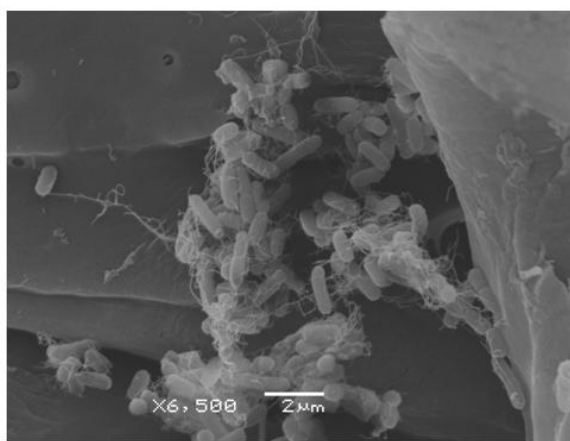


Figura 3: Superfície de polietileno com formação de biofilme por *S. Enteritidis*, após sanitizante.

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador