

FORMAÇÃO DE BIOFILME POR *Salmonella* Enteritidis EM DIFERENTES SUPERFÍCIES

MILAN, Camile¹; AGOSTINETTO, Airton¹; CONCEIÇÃO, Rita de Cássia dos Santos¹; DIAS, Priscila Alves¹; TIMM, Cláudio Dias¹

¹Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, UFPEL

1 INTRODUÇÃO

Frangos estão entre os produtos de origem animal de maior importância na transmissão da salmonelose de origem alimentar ao homem (D'AOUST, 2001). A higienização na indústria visa à qualidade microbiológica dos alimentos, para obtenção de produtos que não ofereçam perigo à saúde do consumidor. Procedimentos de higienização mal conduzidos acabam comprometendo as boas práticas de fabricação na indústria, tendo como consequência a possível contaminação dos alimentos e a transmissão de doenças (ANTONIOU et al., 2005).

Biofilme é uma comunidade de células bacterianas aderidas a uma superfície por meio de apêndices de natureza protéica ou polissacarídica, referidos como glicocálice, circundadas por uma matriz de polímeros orgânicos (COSTERTON et al. 1999; CRIADO et al., 1994).

Os biofilmes podem ser formados, dependendo do tipo de produto processado em diferentes tipos de superfícies, materiais estes comumente utilizados nos equipamentos industriais. Bactérias oriundas de biofilmes podem apresentar resistência aumentada frente a agentes antimicrobianos (JOSEPH et al., 2001).

O trabalho teve como objetivo verificar se linhagens de *Salmonella* Enteritidis são capazes de formar biofilme em superfícies de alumínio, polietileno e vidro.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram utilizadas três cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis, duas delas (LIPOA 2017 e LIPOA 2024) formadoras de biofilme e uma (LIPOA 2018) não formadora, utilizada como cepa controle. Foram utilizadas placas de superfícies planas com 4 cm² de plástico (polietileno de alta densidade), aço inoxidável e vidro. As placas estéreis foram coladas em uma haste metálica e inseridas verticalmente em frascos contendo 150 mL de caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Acumedia, Michigan, USA) com 1% de glicose. Nos frascos, foram adicionados 3 mL de cultura *overnight* a 37°C em BHI de cada isolado formador de biofilme e incubados a 37°C. A cada 48 horas de incubação, as placas foram lavadas suavemente com solução salina 2X para remoção de células não aderidas e novamente inseridas em frascos com 150 mL de BHI, porém sem o inóculo. Após cinco repetições do procedimento, foram passados suabes estéreis na superfície de cada placa e transferidos para tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina. A partir desta, foram feitas diluições seriadas para contagem dos microrganismos em Ágar Padrão para Contagem em Placas (PCA, Acumedia).

O experimento foi realizado em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As cepas formadoras de biofilme apresentaram capacidade de formação de biofilme nas três diferentes superfícies testadas (Tabela 1). A cepa LIPOA 2018, por não ser formadora de biofilme, apresentou contagens inferiores às outras cepas.

TABELA 1: Contagens de *Salmonella* Enteritidis produtoras de biofilme sobre diferentes superfícies.

Superfície	Contagem de <i>Salmonella</i> Enteritidis * (UFC/cm ²)		
	LIPOA 2017	LIPOA 2024	LIPOA 2018
Alumínio	1,2X10 ⁶	3,0 X10 ⁶	2,8X10 ⁴
Polietileno	3,3X 10 ⁶	1,0X 10 ⁶	3,9X 10 ³
Vidro	5,3X10 ⁶	2,2 X10 ⁶	4,2 X10 ⁴

* Média de três repetições

A formação de biofilme é uma causa de graves problemas na indústria, pelo fato de dificultar a desinfecção de bancadas e utensílios utilizados no processamento do alimento.

Os biofilmes, uma vez estabelecidos, são extremamente difíceis de ser eliminados de uma superfície. Pelo fato de apresentarem essa resistência, a eficiência das boas práticas de fabricação na indústria pode ficar comprometida tendo como consequência a possível contaminação dos alimentos e com riscos de surtos de doenças em humanos.

Como pode ser observado na Tabela 1, as duas cepas de *Salmonella* consideradas produtores de biofilme, tiveram capacidade de se aderir tanto em alumínio quanto em vidro e polietileno. Isso é um alerta para as indústrias alimentícias, pelo fato desses três materiais serem comumente utilizados em equipamentos para o processamento de alimentos e em bancadas. Segundo JOHNSTON & JONES (1995), bactérias em biofilmes têm maior resistência a agentes antimicrobianos. Alguns pesquisadores consideraram que as células aderidas são 500 vezes (COSTERTON et al., 1995) ou 1000 vezes (DRENKARD, 2003) mais resistentes que as células planctônicas frente aos mesmos agentes antimicrobianos. Isso leva a crer, comparando com os resultados encontrados nos testes com *Salmonella* Enteritidis, que as cepas LIPOA 2017 e LIPOA 2024, por serem formadoras de biofilme e aderirem a diferentes superfícies, provavelmente também apresentem resistência frente a antimicrobianos.

4 CONCLUSÕES

Salmonella isolada de produtos de frango e de aviário são capazes de formar biofilme em superfícies de materiais comumente utilizados em equipamentos na

indústria de alimentos, o que representa um perigo potencial na veiculação de doenças transmitidas por alimentos (DTA).

5 REFERÊNCIAS

CONCEIÇÃO, R.C.S; HENTGES, A. MOREIRA, A.N.; VASCONCELLOS, F.A.; ÂNGELO, I.M.R.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G; TIMM, C.D. Isolamento de *Salmonella* de produtos de frango e perfil de suscetibilidade dos isolados a antimicrobianos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 31-34, 2007.

DRENKARD, E. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Review. **Microbes and Infection**, v.5, p. 1213-1219, 2003.

D'AOUST, J.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. **Food Microbiology: fundamental and frontiers**. 2th ed. Washington: ASM, 2001.

COSTERTON, J.W.; STEWART, P.S.; GREENBERG, E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, p. 1318-1322, 1999.

JOHNSTON, M.D., JONES, M.V. Disinfection tests with intact biofilms: combined use of de Modified Robbins Device with impedance detections. **Journal of Microbiological Methods**. v. 21, p. 15-26, 1995.

COSTERTON, J.W., LEWANDOWSKI, Z., CALDWELL, D.E., KORBER, R., LAPPIN-SCOTT, H.M. Microbial biofilms. **Annual Review of Microbiology**, v.49, p. 711-745, 1995.

CRIADO, M.T.; SUAREZ, B.; FERREROS, C.M. The importance of bacterial adhesion in dairy industry. **Food Technology**, v. 48, n. 2, p. 123-126, 1994.

JOSEPH, B.; OTTA, S.K.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. Biofilm formation by *Salmonella* spp. On food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p. 367-372 2001.

ANTONIOU, K.; FRANK, J. F. **Removal of Pseudomonas putida biofilm and associated extracellular polymeric substances from stainless steel by alkali cleaning**. Journal of Food Protection, v.68, n.2, p. 277-281, 2005.

GILBERT, P.; ALLISON, D.G.; MCBAIN, A.J. **Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply crossresistance?** Journal of Applied Microbiology, v.92, suppl.1, p. 98S-110S, 2002.

LINDSAY, D.; VON HOLY, A. **What food professionals should know about bacteria biofilms**. British Food Journal, v.108, n.1, p. 27-37, 2006.