

## PRODUÇÃO DE BIOFILME POR *Salmonella* ISOLADAS DE PRODUTOS CÁRNEOS

**AGOSTINETTO, Airton<sup>1</sup>; MILAN, Camile<sup>1</sup>; DIAS, Priscila Alves<sup>1</sup>; CONCEIÇÃO Rita de Cássia<sup>1</sup>; TIMM, Cláudio Dias<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, FVet, UFPel Pelotas/RS, Brasil.  
[rtnvet.ag@gmail.com](mailto:rtnvet.ag@gmail.com)

### 1 INTRODUÇÃO

*Salmonella* é uma das principais causas de doença bacteriana de origem alimentar em humanos (D'Aoust et al., 2001). Inúmeros surtos de toxinfecção alimentar causados por essa bactéria são conhecidos, envolvendo frequentemente carnes de aves e de outras espécies (FRANCO & LANDGRAF, 2003).

A presença de microrganismos formadores de biofilmes nas indústrias de alimentos, como *Salmonella*, é motivo de preocupação por parte dos órgãos responsáveis pela inspeção de produtos de origem animal e saúde pública, uma vez que bactérias oriundas de biofilmes podem apresentar resistência aumentada frente a agentes antimicrobianos, quando comparadas a bactérias planctônicas (JOSEPH et al., 2001).

Biofilme é uma comunidade de microrganismos sésseis caracterizado por células que se aderem a uma superfície, embebidas em uma matriz extracelular formada por exopolissacarídeos (DONLAN & COSTERTON, 2002). Sua formação em indústrias alimentícias é de grande importância, por seu potencial como uma fonte crônica de contaminação microbiana aos alimentos, podendo transmitir doenças, além de aumentar a resistência à limpeza e sanitização (STEPANOVIC et al., 2004).

O trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de diferentes cepas de *Salmonella* isoladas de produtos cárneos formarem biofilme.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte isolados de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolados de produtos cárneos (Tabela 1) em trabalho anterior (CONCEIÇÃO et al., 2007) foram recuperados em caldo Brain Heart Infusion (BHI, Acumedia) e avaliados quanto à capacidade de produção de biofilme em placa de microtitulação com fundo em "U" (Nunclon, Nune, Roskilde, Denmark), conforme técnica descrita por MØRETRØ et al. (2003), com modificações.

**Tabela 1.** Isolados de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* utilizados no experimento.

<b>Identificação</b>	<b>Sorotipo</b>	<b>Fonte</b>
LIPOA 2001	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2002	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2003	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2004	Agona	salsichão de frango
LIPOA 2005	Infantis	lingüiça seca de suíno
LIPOA 2006	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2007	Derby	carne de frango moída
LIPOA 2008	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2009	Havana	lingüiça frescal de suíno
LIPOA 2011	Infantis	lingüiça seca de suíno
LIPOA 2017	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2018	Enteritidis	carne de frango moída
LIPOA 2023	Typhimurium	salsichão de suíno
LIPOA 2024	Enteritidis	salsichão de frango
LIPOA 2034	Muenchen	carne bovina moída
LIPOA 2035	Derby	carne bovina moída
LIPOA 2039	Infantis	carne bovina moída
LIPOA 2040	Anatum	chuleta de suíno
LIPOA 2042	Derby	chuleta de suíno
LIPOA 2043	Newport	coxa/sobrecoxa de frango

Culturas *overnight* a 37°C em caldo Brain Heart infusion (BHI, Acumedia) foram padronizadas através de espectrofotometria a 600 nm para avaliar o crescimento total sendo assim ajustadas para 1,00. Após foram diluídas a 1:10 em BHI com 1% (m/v) de glicose. Alíquotas de 200 µL da suspensão de células de cada isolado foram distribuídas nas cavidades das placas e incubadas a 37°C por 24 horas. As placas foram, então, lavadas três vezes com 200 µL de solução salina 0,1% (m/v), para remoção das células que não aderiram, e secadas por inversão. As células aderidas nas placas foram coradas com 200 µL de cristal violeta 0,1% (m/v) por 15 minutos. O corante foi removido e, após secagem por 2 horas, a absorbância a 630 nm foi determinada. Uma cepa formadora de biofilme foi utilizada como controle positivo. Os isolados que apresentaram  $A_{630} < 0,1$ ,  $0,1 \leq A_{630} < 1,0$  e  $A_{630} \geq 1,0$  foram definidos como não formadores, fracos formadores e fortes formadores de biofilme, respectivamente.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dois (10%) isolados de *Salmonella* do sorotipo Enteritidis isoladas de carne de frango moída e salsichão de frango foram definidos como fracos formadores de biofilme, apresentando  $A_{630} = 0,134$  e  $0,175$ , respectivamente. Os demais sorotipos utilizados no experimento apresentaram resultados com  $A_{630} < 0,1$  e foram considerados como não formadores de biofilme.

RODRIGUES et al. (2008) testaram a capacidade de *Salmonella* isoladas de carne de aves formarem biofilmes em placas de poliestireno, confirmando a capacidade de formação de biofilme pela bactéria. Entretanto esses autores trabalharam com uma cepa do sorotipo Heidelberg. No presente estudo, embora não

tenha sido utilizado o sorotipo Heidelberg, foram testados nove diferentes sorotipos isolados de produtos cárneos de três espécies animais.

De acordo com FLACH et al. (2005), existem vários fatores relacionados à formação de biofilmes. Os principais são: características físico-químicas da superfície, expressão de fatores de virulência por parte dos microrganismos e estado fisiológico das células bacterianas no momento da análise. É possível que as placas de microtitulação utilizadas neste estudo estejam relacionadas com a fraca capacidade de formação de biofilme observada nos isolados que apresentaram  $A_{630} < 1,0$ . Estudos em superfícies de diferentes materiais, utilizando um número maior de isolados, estão em desenvolvimento, de forma a identificar e caracterizar os sorotipos e linhagens de *Salmonella* que possam exigir maior rigor na aplicação das boas práticas de fabricação por parte das indústrias de alimentos.

A presença de *Salmonella* em alimentos reveste-se de importância adicional quando esses microrganismos são capazes de produzir biofilmes, uma vez que a sua remoção das fontes de contaminação ou inativação por substâncias sanitizantes ficam dificultadas (MEYER, 2003).

#### 4 CONCLUSÕES

Produtos cárneos oferecidos ao consumo humano podem veicular linhagens de *Salmonella* capazes de desencadear a formação de biofilmes.

#### 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.

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, p. 141-178, , 2001.

FLACH, J.; KARNOPP, C.; CORÇÃO, G. Biofilmes formados em matéria-prima em contato com leite: fatores de virulência envolvidos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 3, p. 291-296, 2005.

DONLAN, R.M. & COSTERTON, J.M. Biofilms: Survival Mechanisms of clinically Relevant Microorganisms. **Clinical Microbiology review**. 15: 167-193, 2002.

STEPANOVIC, S.; IRKOVIC, I.C.; RANIN, L. & SVABIC-VLAHOVC, M. Biofilm formation by *Salmonella* spp. And *Listeria monocytogenes* on plastic surface. **Letters in applied Microbiology**. 38: 428- 432, 2004.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos In: FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 33-81, 2003.

MEYER, B. Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 51, p. 249-253, 2003.

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.

MØRETRØ, T.; HERMANSEN, L.; HOLK, A.L.; SIDHU, M.S.; RUDI, K.; LANGSRUD, S. Biofilm formation and the presence of the intercellular adhesion locus *ica* among *Staphylococci* from food and food processing environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5648-5655, 2003.

RODRIGUES, L.B.; SANTOS, L.R.; RIZZO, N.N.; TAGLIARI, V.Z.; OLIVEIRA, A.P.; TRENHAGO, G.; RODEGHERI, S.C.; TAGLIETI, R.M.; DICKEL, E.L. & NASCIMENTO, V.P.. Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. **Acta scientiae veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 225-230, 2008.