

Avaliação da adesão de patógenos alimentares em materiais de equipamentos utilizados na produção de alimentos

Anelise Possamai, Leticia Sopeña Casarin, Eduardo César Tondo

INTRODUÇÃO

Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil, foram registrados 7.234 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), entre 1999 e 2011 (BRASIL, 2011). Até o ano de 2009 os surtos envolveram 123.917 pessoas, das quais 70 foram a óbito (BRASIL, 2009). No Rio Grande do Sul (RS) foram registrados aproximadamente 3200 surtos de DTA, no período de 1980 a 2006 (RIO GRANDE DO SUL, 2006). Evitar a ocorrência desses surtos é um dos objetivos fundamentais dos órgãos fiscalizadores, empresas de alimentos e também de centros de pesquisa da área. A adesão bacteriana e a formação de biofilmes têm grande importância nas indústrias de alimentos e serviços de alimentação, uma vez que estes podem dificultar a higienização das superfícies que entram em contato com o alimento, propiciando a contaminação cruzada e, conseqüentemente a ocorrência de surtos.

OBJETIVOS

Avaliar a adesão de *Salmonella* Enteritidis (SE 86 – isolada de alimento envolvido em surto no RS) e *Listeria monocytogenes* (J11 – isolada de frigorífico do RS) na superfície dos aços inoxidáveis AISI 304 e AISI 316, através da contaminação de corpos de prova com as bactérias em estudo, seguida da quantificação do número de células aderidas e também observar a adesão bacteriana nas superfícies através de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

METODOLOGIA

1. Preparação dos inóculos

S. Enteritidis foi cultivada em Caldo Infusão de Cérebro (BHI), a 37°C, por aproximadamente 18 horas e a *L. monocytogenes* foi cultivada em BHI adicionado de 0,6% de extrato de levedura, ambas incubadas a 37°C, por aproximadamente 24 ou 48 horas e diluídas até 10⁵ UFC/mL.

2. Preparação dos corpos de prova

Os Corpos de prova de aço inoxidável AISI 304 e AISI 316 foram confeccionados nas dimensões 2cm x 2cm e 0,15-0,20 cm. Previamente aos ensaios de adesão microbiana estes foram preparados e desinfetados conforme metodologia descrita por ROSSONI & GAYLARDE (2000).

3. Contaminação dos corpos de prova e avaliação da adesão bacteriana

Os corpos de prova foram imersos em 100 mL de caldo BHI contendo culturas individuais das bactérias na concentração de aproximadamente 10⁵ UFC/mL, em temperatura ambiente.

Seis corpos de prova de aço inoxidável foram imersos na cultura de cada microrganismo, onde permaneceram durante os tempos 0h, 1h, 2h, 4h, 6h e 8h.

Em seguida, os corpos de prova foram lavados com 1 mL de água destilada estéril para remover as células pouco aderidas. Os corpos de prova foram posteriormente imersos em 25 mL de água peptonada 0,1% e imediatamente tratados em desruptor de células ultrassônico, para que as células aderidas se soltassem da superfície (SINDE & CARBALLO, 2000).

Duas diluições decimais da solução de cada corpo de prova sonificado foram preparadas (10⁻¹ e 10⁻²), sendo que 20µL das mesmas foram semeados em TSA (Tryptic Soy Agar) e TSA adicionado de 0,6 % de extrato de levedura (para *S. Enteritidis* e *L. monocytogenes*, respectivamente), pelo método da gota (MILLES & MISRA, 1938) e então incubados a 37°C, por 18h e 48 h, para *S. Enteritidis* e *L. monocytogenes*, respectivamente, para posterior contagem das unidades formadoras de colônia (UFC). Em cada ensaio de adesão foi realizada paralelamente a quantificação do número de células na suspensão utilizada para imersão dos corpos de prova, utilizando-se a mesma técnica descrita para avaliação da adesão nas superfícies. Os experimentos foram realizados em duplicata e cada experimento repetido três vezes.

4. Microscopia Eletrônica de Varredura

Os corpos de prova com as células aderidas, foram fixados com glutaraldeído 12%, preparados conforme metodologia descrita por MARCON, *et al.* (2007) e observados no microscópio eletrônico de varredura – Jeol 6060 no Centro de Microscopia Eletrônica – UFRGS.

RESULTADOS

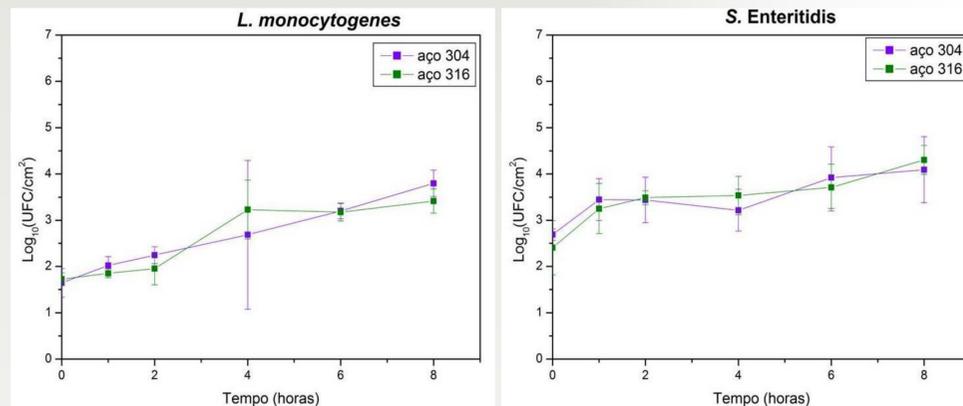


Figura 1: Adesão de *L. monocytogenes* e *S. Enteritidis* nos Aços Inoxidáveis AISI 304 e AISI 316.

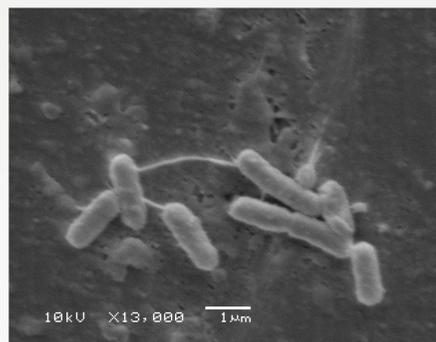


Figura 2: Micrografia de *S. Enteritidis* em Aço inoxidável AISI 316

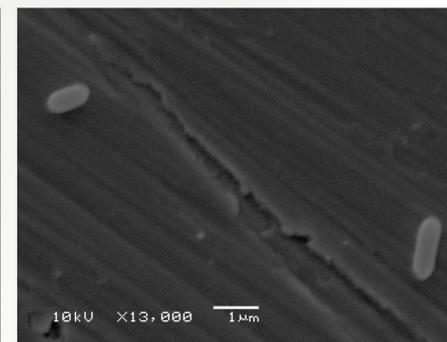


Figura 3: Micrografia de *L. monocytogenes* em Aço inoxidável AISI 304.

CONCLUSÃO

Não há diferença significativa ($p > 0,05$), entre a adesão no aço 304 e no aço 316 para as duas bactérias. *S. Enteritidis* aderiu significativamente ($p < 0,05$), mais que *L. monocytogenes* (0,87 Log₁₀ UFC/cm²) no tempo 0.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Análise Epidemiológica dos Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Atualizado em 2011. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/analise_ep_surtos_dta_brasil_2009.pdf. Acesso em: 17 de abril de 2012;

SINDE, E.; CARBALLO, J. Attachment of *Salmonella* sp. And *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiology*, v.17, n. 4, p.439-447, 2000.