

HABILIDADE DE *Listeria monocytogenes* PROVENIENTES DE CARCAÇAS BOVINAS PARA FORMAR BIOFILME EM AÇO INOX A 25 °C

GIOVANA WINK FALEIRO¹; LAÍS ABREU ANASTÁCIO, PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES, ISABELA SCHNEID KRONING, GRACIELA VÖLZ LOPES²; WLADIMIR PADILHA DA SILVA³

¹Universidade Federal de Pelotas – giovanawink@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – anastacio.alais@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – pam.inchauspe@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – isabelaschneid@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – graciela.vlopes@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – silvawp@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Alimentos seguros e de qualidade são uma das principais preocupações de indústrias de alimentos e de consumidores, uma vez que a sua contaminação pode ocasionar problemas econômicos e de saúde pública (MAZAHERI et al. 2021). Como exemplo, a contaminação cruzada, definida como a transferência de micro-organismos provenientes de alimentos para superfícies ou produtos, a qual pode ocorrer de diferentes maneiras (KIRCHNER, 2021), é considerada como a principal causadora de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), estando envolvida em 91,7% dos casos (MAZAHERI et al., 2021).

Dentre os micro-organismos patogênicos envolvidos em surtos e casos de DTA pode-se destacar *Listeria monocytogenes*, um pequeno bastonete Gram-positivo, anaeróbio facultativo, psicrotrófico e ubiquitário. O patógeno é causador da listeriose, sendo o consumo de alimentos contaminados pelo micro-organismo a principal causa da infecção. A doença é considerada uma ameaça à saúde pública global, uma vez que estudos apresentam taxas de letalidade de até 42% (SCOBIE et al., 2018).

Listeria monocytogenes possui diversos mecanismos de sobrevivência sob condições adversas no ambiente. Uma das formas de resistência mais descrita é a formação de biofilme, definido como uma comunidade estruturada de células microbianas, capaz de se aderir às mais variadas superfícies (MELIAN et al., 2022), contribuindo para a permanência da bactéria no ambiente. Um exemplo de superfície em que o micro-organismo se adere, é o aço inox, material amplamente utilizado em indústrias de alimentos.

A avaliação da habilidade de formação de biofilme em isolados de *L. monocytogenes* é importante devido a essa capacidade facilitar a permanência do micro-organismo no ambiente da indústria e a contaminação dos produtos finais, provocando riscos à saúde do consumidor. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de formação de biofilme de *L. monocytogenes* isolados de carcaças bovinas provenientes de abatedouros-frigoríficos da região sul do Rio Grande do Sul, em aço inox, a 25 °C.

2. METODOLOGIA

Foram avaliados doze isolados de *L. monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas, oriundas de dois frigoríficos da região sul do Rio Grande do Sul,

previamente caracterizados por Iglesias et al. (2017). As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas.

A avaliação do potencial de formação do biofilme foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Andrade et al. (1997). A análise foi feita em cupons de aço inoxidável AISI 304, sob temperatura de incubação de 25 °C. Essa temperatura foi utilizada em função do resultado de uma média aritmética realizada entre sete medições de temperaturas do ambiente da sala de abate, em diferentes dias, ao longo do mês de maio de 2022. Os isolados de *L. monocytogenes* foram cultivados em ágar Triptona de Soja (TSA, Acumedia®), por um período de 24 horas, a 37 °C. Após o período de incubação, os isolados foram diluídos em solução salina (0,85%) até a turbidez 0,5, segundo a escala de McFarland ($\sim 10^8$ UFC.mL⁻¹), e 1 mL foi inoculado em tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo Triptona de Soja (TSB, Acumedia®), nos quais estavam imersos os cupons de aço inoxidável, incubando-se a 25 °C por 24 horas.

Após esse período, os cupons foram transferidos para tubos tipo falcon contendo 5 mL de água Peptonada 0,1% (AP, Oxoid®), permanecendo imersos, em repouso, por um minuto para a retirada de células planctônicas. Em seguida, os cupons foram transferidos para outro tubo tipo falcon contendo 10 mL da mesma solução, sendo submetidos à agitação em agitador tipo vórtex por dois minutos para a retirada de células sésseis. Posteriormente, foram realizadas diluições decimais seriadas em microtubos contendo 0,9 mL de AP 0,1%. Cada diluição foi semeada em placas de Petri contendo ágar TSA, as quais foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os doze isolados de *L. monocytogenes* avaliados apresentaram habilidade para formar biofilme, uma vez que foram obtidas concentrações variando entre 6,27 Log UFC. cm⁻² e 7,51 Log UFC.cm⁻² de células aderidas aos cupons de aço inoxidável, após 24 h de incubação a 25 °C (Tabela 1). De acordo com Ronner e Wong (1993), considera-se que um isolado apresenta potencial de formação de biofilme quando este apresenta concentrações de células bacterianas aderidas à superfície superiores a 5 Log UFC.cm⁻².

Tabela 1. Contagens de *Listeria monocytogenes* isoladas de carcaças bovinas em aço inox, a 25 °C, após 24 h de incubação

Isolado	Média/Log	Desvio Padrão
B1	6,72	0,0
B2	6,87	0,03
B3	6,78	0,00
B4	7,51	0,00
B5	7,13	0,0
B6	7,30	0,06
B7	7,06	0,14
B8	6,27	0,36
B9	6,46	0,00
B10	6,83	0,08
B11	6,97	0,03
B12	7,08	0,28

A formação de biofilme é um problema para a indústria de alimentos, pois sua presença possibilita a persistência de bactérias patogênicas no ambiente de processamento (FAGERLUND, 2020). Além disso, a temperatura tem influência sobre a capacidade de formação dos biofilmes microbianos. Estudos conduzidos por Alonso (2019) demonstraram que isolados de *L. monocytogenes* oriundos de produtos lácteos apresentaram capacidade de formação de biofilme em aço inox em temperatura de 25 °C, semelhante ao observado neste estudo. Da mesma forma, Zameer (2009), verificou que *L. monocytogenes* EGD-e formou biofilme a 25 °C.

Listeria monocytogenes é um micro-organismo que apresenta caráter psicrotrófico, porém, consegue se multiplicar em uma ampla faixa de temperatura, entre 0 e 42 °C (ALFAMA, 2018). Isto demonstra que essa bactéria é bastante resistente a mudanças de temperatura e essa característica, aliada a capacidade para formar biofilme, facilita a sua sobrevivência e multiplicação em ambientes de processamento de alimentos (MELIAN et al., 2022). Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que *L. monocytogenes* circulantes em abatedouros-frigoríficos da região estudada apresentam habilidade para formar biofilme a 25 °C, portanto, podem se aderir e persistir na planta de abate, podendo provocar a contaminação cruzada de superfícies, de equipamentos, bem como de carcaças (ALONSO & KABUKI, 2019).

4. CONCLUSÕES

Todos os isolados de *L. monocytogenes* (n=12) avaliados no presente estudo têm habilidade para formar biofilme em aço inox a 25 °C. Esse resultado é importante, pois a temperatura de incubação e a superfície utilizadas no experimento são comuns em ambientes das salas de abate e, tendo em vista que o biofilme permite ao patógeno sobreviver e se multiplicar no ambiente do abatedouro-frigorífico, essa característica favorece a contaminação da sala de abate bem como das carcaças bovinas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFAMA, Elis Regina Gomes. **Identificação de cenários de temperaturas de distribuição em restaurantes industriais no Brasil e modelagem da multiplicação de patógenos alimentares em preparações de risco.** 2018. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ALONSO, Vanessa et al. Formation and dispersal of biofilms in dairy substrates. **International Journal of Dairy Techonology**, São Paulo, vol. 72, p. 472 – 478, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0307.12587>. Acesso em: 22 jun. 2022

FAGERLUND, Annette et al. Microbial diversity and ecology of biofilms in food industry environments associated with *Listeria monocytogenes* persistence. **Current Opinion in Food Science**, vol. 37, p. 171 – 178, fevereiro, 2021. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799320301053>. Acesso em: 26 jul. 2022

IGLESIAS, Mariana Almeida et al. Occurrence and phenotypic and molecular characterization of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in slaughterhouses in Southern Brazil. **Food Research International**, Brasil, vol. 100, p. 96 – 101, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917302752>. Acesso em: 10 jul. 2022

KIRCHNER, Margaret et al. Cross-contamination on Atypical Surfaces and Venues in Food Service Environments. **Journal of Food Protection**, Estados Unidos, vol. 84, p. 1239 – 1251. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/84/7/1239/456305/Cross-Contamination-on-Atypical-Surfaces-and>. Acesso em: 29 jul. 2022

MAZAHERI, Tina et al. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)**. Espanha, vol.9. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/1/181>. Acesso em: 25 jul. 2022

MELIAN, Constanza et al. Biofilm genes expression of *Listeria monocytogenes* exposed to *Lactilactobacillus curvatus* bacteriocins at 10°C. **International Journal of Food Microbiology**. Argentina, vol. 370, p. 1 – 13, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160522001192>. Acesso em: 19 jul. 2022

SCOBIE, Antonia et al. Mortality risk factors for listeriosis – A 10 year review of non-pregnancy associated cases in England 2006 –2015. **Journal of Infection**. S0163445318303530–. doi:10.1016/j.jinf.2018.11.007

ZAMMER, Farhan et al. Development of a biofilm model for *Listeria monocytogenes* EGD-e. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. Vol. 26, p. 1143 – 1147, 2010. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-009-0271-4>. Acesso em: 12 ago. 2022