IAFP Latino 2024
Simpósio Latinoamericano em Segurança dos Alimentos
Santos - SP - Brasil
11 a 14 Nov, 2024

Avaliação da formação de biofilme de Cronobacter sakazakii pelo método Dry Surface biofilm (DSB)

Vinicius Silva Alexandre Vaz[1], Mariana Silveira Derami[2], Maria Clara Machado Campos[1], Maristela da Silva do Nascimento[1]

[1.] Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos , Campinas/SP, Brasil
[2.] Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia , Campinas/SP, Brasil

Cronobacter sakazakii é um patógeno alimentar associado a surtos, especialmente em alimentos de baixa atividade de água (aw), como fórmula láctea em pó e alimentos à base de cereais. Esses surtos têm causado alta mortalidade em neonatos globalmente. Além disso, Cronobacter demonstra habilidade em formar biofilmes em superfícies abióticas e resistir a condições de dessecação, o que favorece a persistência por longos períodos no ambiente fabril de baixa umidade. Pesquisas recentes têm desenvolvido uma nova técnica alternando fases úmidas e secas para a formação de biofilmes em superfícies, chamada de dry surface biofilm (DSB). Isto simularia a entrada acidental ou esporádica de água no ambiente, seguido por períodos de condição seca. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a formação de biofilme por Cronobacter sakazakii pelo método DSB em cupons de aço inoxidável (AI) e polipropileno (PP). Para a formação do biofilme foi utilizado um coquetel de cinco cepas de Cronobacter sakazakii, todas isoladas de alimentos de baixa aw (P4499 – Biogrupo 8a; P4787 – Biogrupo 2; P4791 – Biogrupo 3; P4795 – Biogrupo 1; P4798 – Biogrupo 5). As cepas foram propagadas em duplo repique em caldo tripticase de soja (TSB). Em seguida, foram preparadas suspensões de cada cepa em solução salina 0,85%. O inóculo final foi constituído por 1 mL de cada suspensão, com contagem final de 6 log ufc/ml. Ao todo, foram avaliadas quatro diferentes condições para formação do DSB de Cronobacter sakazakii (T1 = 48 h fase úmida + 48 h fase seca, T2 = 24 h fase úmida + 72 h fase seca e T3 = 24 h fase úmida + 120 h fase seca e T4 = 8 h fase úmida + 48 h fase seca). Para a realização do experimento, cupons de AI e PP foram acondicionados em placas de cultura de células de fundo chato e inoculados com 1 mL de TSB contendo o inóculo. As placas foram mantidas sob agitação em temperatura ambiente pelo tempo determinado em cada tratamento, o que correspondia a fase úmida. Em seguida, o TSB foi drenado dos poços e as placas incubadas a 25 ° C pelo tempo determinado em cada tratamento, o que correspondia a fase seca. Cada tratamento foi constituído por dois ciclos completos de fase úmida + fase seca. Ao final de cada ciclo, as contagens de células sésseis cultiváveis (CSC) e células sésseis viáveis totais (CSV = CSC + células viáveis, mas não cultiváveis (VBNC)) foram determinadas em ágar triptona de soja (TSA). Além disso, após a finalização do segundo ciclo, os biofilmes foram analisados por microscópio eletrônica de varredura (MEV). As contagens de CSC variaram entre 4,5 e 8,1 log UFC/cm2 e de CSV de 7,2 a 9,0 log UFC/cm2. A contagem de CSV foi similar entre os tratamentos e as superfícies avaliadas ($p > 0,05$). Já para as contagens de CSC foi observada diferença significativa entre os resultados em T4 AI dos demais tratamentos ($p < 0,05$). As imagens de MEV mostraram a presença de células com alterações morfológicas devido ao estresse dessecativo, como elongamento e dessecação celular, além da presença de matriz de exopolissacarídeo. Portanto, Cronobacter sakazakii foi capaz de formar DSB nas quatro condições avaliadas tanto em AI quanto em PP, o que evidencia o potencial risco em indústrias de alimentos de baixa aw.

Agradecimentos: Agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (processos 2021/06809-2 e 2023/03076-0), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).