FORMAÇÃO DE BIOFILME MULTI-ESPÉCIES DE Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Pseudomonas fluorescens E Pseudomonas aeruginosa ATRAVÉS DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL (DCCR)

Marcília Santos Rosado Castro[1], **Meg da Silva Fernandes**[2], Dirce Yorika Kabuki[2], Arnaldo Yoshiteru Kuaye[2]

[1.] INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUDESTE DE MINAS GERAIS, Barbacena/MG, Brasil
[2.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, Campinas/SP, Brasil

<p>Enterococcus e Pseudomonas são capazes de formar biofilmes em superfícies de equipamentos e utensílios utilizados no processamento de alimentos. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de formação de biofilme multi-espécies de Enterococcus sp. e Pseudomonas sp. através do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Os biofilmes foram formados em cupons de aço inoxidável 304#4 imersos em leite UHT integral, inoculado com um pool de aproximadamente 2 log UFC/mL de 5 cepas de E. faecium, E. faecalis, P. fluorescens e P. aeruginosa, todas isoladas de uma indústria de processamento de queijo Minas frescal. A cada 48h, os cupons eram incubados em um novo leite inoculado com a mesma concentração inicial, afim de manter a população no meio. A avaliação da formação dos biofilmes através do DCCR foi feita nos tempos 0; 1,2; 4; 6,8 e 8 dias e nas temperaturas 7; 13; 27; 41 e 47°C. Após cada combinação de tempo e temperatura, os cupons foram imersos em 10 mL de água peptona 0,1% por 1 min e, logo após, imersos em 5 mL de água peptonada 0,1%, submetidos a vórtex por 2 minutos, seguido de plaqueamento em ágar padrão para contagem (PCA) para contagem total, ágar KF Streptococcus para contagem de Enterococcus sp. e em ágar Cetremid para contagem de Pseudomonas sp. com incubação a 35°C por 48h. Para verificação dos modelos encontrados, foram conduzidos ensaios experimentais em três repetições, em condições não avaliadas anteriormente (3 dias a 25 ºC), como forma de testar a eficiência do modelo. Foram considerados significativos os parâmetros com p-valores menores que 10% (p<0,1), embora as análises estatísticas tenham sido realizadas utilizando-se alfa de 5% (p<0,05). Apenas o termo associado à interação (Temperatura x Tempo), não foi significativo, independentemente da análise, e, portanto, este foi incorporado aos resíduos para o cálculo da ANOVA. Os Fcalculados encontrados foram 2,79; 2,72 e 3,41 vezes maior que o Ftabelado e as porcentagens de variações explicadas de 89,37; 89,16 e 91,11% para as contagens de Enterococcus sp., Pseudomonas sp. e contagem total, respectivamente, demonstrando uma boa concordância entre os valores experimentais e previstos pelos modelos. A região ótima para formação de biofilme multi-espécies por E. faecium e E. faecalis variou de 23,7 a 47°C e 3,6 a 8 dias, sendo a formação de biofilme observada de 10,2 a 47°C e 1,4 a 8 dias. Os resultados foram semelhantes aos encontrados para os biofilmes monoespécie (dados

não mostrados), indicando que a interação não influenciou na formação de biofilme multi-espécies de Enterococcus sp. A região ótima para a formação de biofilme multi-espécies por P. fluorescens e P. aeruginosa variou de 26,5 a 47°C por 3,1 a 7,7 dias, com formação de biofilme a partir de 19,6 a 47°C por 1,8 a 8 dias. Comparando com os resultados de biofilmes monoespécie (dados não mostrados), para a formação de biofilme multi-espécies de Pseudomonas sp. foi necessário um tempo de contato inicial, em média, um dia superior, bem como uma temperatura inicial, em média, 9,2 °C superior a necessária para os biofilmes monoespécie. Assim, pode-se afirmar que Enterococcus sp. inibiram o desenvolvimento de Pseudomonas sp. no biofilme multi-espécies. Os valores preditos para Pseudomonas sp. (4,14 log UFC/cm2) e Enterococcus sp. (5,41 log UFC/cm2) foram superiores aos encontrados experimentalmente (3,61 e 5,36 log UFC/cm2), respectivamente, demonstrando que as predições tendem ao lado seguro do modelo.</p>

Agradecimentos: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Processo n.140334/2009-2.