



SUSCEPTIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* ORIUNDOS DE QUEIJOS FRENTE AO HIPOCLORITO DE SÓDIO - DADOS PRELIMINARES

Kelly Guedes¹, Lucas Schaefer Batista², Betiele Badia³, Natacha Deboni Cereser⁴, Patrícia da Silva Nascente⁵, Helenice Gonzalez de Lima⁶.

1– Programa de Residência em Inspeção e Tecnologia de Produtos de Origem Animal pela Universidade Federal de Pelotas – CEP: 960160-000 – Capão do Leão – RS – Brasil, Telefone: (48) 99624-6687 – e-mail: (kellyguedes99@hotmail.com)

2– Programa de Pós-Graduação em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Capão do Leão – RS – Brasil, Telefone: (53) 99909-7213 – e-mail: (lbatistasul@gmail.com)

3– Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96010-610 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 99121-4070 – e-mail: (betiele.badias@gmail.com)

4– Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal - Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Capão do Leão – RS – Brasil, Telefone: (53) 98129-8060 – e-mail: (natachacereser@yahoo.com.br)

5– Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Capão do Leão – RS – Brasil, Telefone: 55 (53) 98144-9870 – e-mail: (pattsn@gmail.com)

6– Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal - Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Capão do Leão – RS – Brasil, Telefone: (53) 99981-2614 – e-mail: (helenicegonzalez@hotmail.com)

RESUMO – devido ao aumento de casos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar ocasionados por *Escherichia coli* no Brasil, o potencial de transmissão deste patógeno por alimentos e uma possível resistência aos sanitizantes utilizados pela indústria alimentícia, o presente estudo avaliou a sensibilidade de isolados de *E. coli* frente ao hipoclorito de sódio. Realizou-se o estudo a partir de nove isolados do microorganismo, provenientes de queijos de procedência desconhecida, comercializados em cidades da região sul do Rio Grande do Sul. Para avaliar o desempenho do sanitizante frente aos microrganismos, utilizou-se a técnica de microdiluição seriada em placas de 96 poços, com concentrações entre 25 g/L e 0,05 g/L. Verificou-se que a Concentração Inibitória Mínima (CIM) média foi 1,72 g/L, e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) média foi 3,28 g/L. Concluiu-se que as concentrações do sanitizante usualmente utilizadas não seriam suficientes para eliminar boa parte dos isolados.

ABSTRACT – looking for increase of cases of Waterborne and Foodborne Diseases caused by *Escherichia coli* in Brazil, the potential for transmission of this pathogen by food and a possible



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

resistance to sanitizers used by food industry, the present study evaluated the sensitivity of *E. coli* isolates to sodium hypochlorite. The study was carried out using 9 isolates of this bacteria, from unknown origin cheeses, that has been sellen in cities in the southern region of Rio Grande do Sul-Brazil. To evaluate the performance of hypochlorite against microorganisms, serial microdilution in 96-well plates was used, with concentrations between 25 g/L and 0.05 g/L. It was found that the average Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was 1,72 g/L, and the average Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was 3,28 g/L. It was concluded that the concentration of the sinitizer usually used is not sufficient to eliminate most of the isolates.

PALAVRAS-CHAVE: Sanitizante; Produto de Origem Animal; Sensibilidade Antimicrobiana.

KEYWORDS: Sanitizer; Animal Origin Product; Antimicrobial Susceptibility.

1. INTRODUÇÃO

A saúde única abrange a saúde humana, animal e ambiental, interligando-as. A exemplo disso, há o potencial de propagação de patógenos aos seres humanos através dos alimentos de origem animal que, muitas vezes, podem apresentar resistência a antimicrobianos (BECKMAN *et al.*, 2023; SILVA, *et al.* 2019). Apesar dos registros de casos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) pelo Ministério da Saúde serem significativos, estima-se que a maior parte deles não é notificada, sobretudo devido aos sintomas inespecíficos aos quais estão associados, como enjojo, vômito, diarreia e febre, principalmente em casos mais leves, em que o enfermo não busca atendimento médico e tampouco é detectado o agente etiológico. As DTHA podem ser ocasionados por diversas espécies de vírus, fungos, bactérias, parasitas e ainda por substâncias químicas (KLEIN; BISOGNIN, FIGUEIREDO, 2017; WELKER *et al.*, 2010).

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria bacilo GRAM negativa, não esporulada, anaeróbia facultativa, capaz de fermentar a glicose com produção de ácido e gás, que está frequentemente associada aos casos de DTHA (FRANCO; LANDGRAF, 2023; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Sua presença indica uma possível contaminação de origem fecal, já que faz parte da microbiota do trato gastrointestinal de animais de sangue quente. A detecção de altas contagens dessa bactéria em alimentos pode indicar, ainda, falha na higienização de utensílios e na manipulação dos mesmos, principalmente em alimentos processados termicamente (FRANCO; LANDGRAF, 2023). De 2014 a 2023, a *E. coli* foi o agente etiológico mais identificado em surtos de DTHA no Brasil, representando 34,8% do total, acompanhado por um aumento dos casos registrados (BRASIL, 2024).

Para diminuir a carga bacteriana presente nos alimentos e evitar a propagação de agentes causadores de DTHA, o uso de sanitizantes é uma importante ferramenta a ser empregada. Sua



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

eficácia depende do seu princípio ativo, tempo de contato com a superfície, da sua concentração, natureza da microbiota a ser controlada e prévia limpeza para retirada de compostos orgânicos (AFONSO, 2023; DE BONA *et al*, 2010). Dentre os principais sanitizantes utilizados na indústria leiteira, o hipoclorito de sódio destaca-se por ser o mais utilizado, principalmente por seu baixo custo (MENEGARO *et al.* 2016; KUAYE, 2017). Em virtude disso, o presente estudo avaliou a sensibilidade *in vitro* de isolados de *E. coli* provenientes de queijos de procedência desconhecida frente ao sanitizante hipoclorito de sódio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Nove isolados estocados de *E. coli* com origem em queijos de procedência desconhecida, do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, foram selecionados para avaliar a sensibilidade ao Hipoclorito de sódio. O experimento foi realizado em duplicata, sendo que cada isolado foi testado por duas vezes, em dois dias diferentes, em um total de quatro repetições, adaptado do National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI, 2003).

A partir do estoque, uma alíquota de 0,1 ml cada isolado foi recuperada em 3 ml de caldo Infusão-Cérebro-Coração (BHI - Kasvi) e incubado à 37 °C por 24 horas, conforme Silva *et al* (2017). Posteriormente uma alíquota de 10 µl foi semeada em ágar MacConkey (Kasvi), incubando-se por 24 horas à 37 °C, a fim de verificar a pureza do material recuperado.

Para o preparo do inóculo, semeou-se os isolados em Ágar Padrão de Contagem (PCA - Kasvi), por ser um meio não cromogênico e não seletivo, conforme recomenda Ribeiro e Stelato (2011), incubou-se a 37 °C por 24 horas. A partir do PCA realizou-se a diluição do inóculo em solução salina (0,85%) até atingir a turbidez 0,5 na escala McFarland, correspondente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml verificado através do aparelho Vitek Densithec®. Posteriormente, foi realizada a diluição de 1 ml da solução com inóculo em um tubo com 9 ml de caldo Muller Hinton (MH - Kasvi). Cinco microlitros da solução final com inóculo foi depositada em todos os poços, exceto na primeira coluna, correspondente ao controle negativo. Da 2ª até a 11ª coluna foram testadas as diferentes concentrações do sanitizante, obtidos através da microdiluição subsequente de hipoclorito de sódio a 5%, em que a concentração do composto caía pela metade a cada coluna distribuída, restando, como volume final, 100 µl caldo MH e composto em cada poço. Em vista disso, as concentrações dos sanitizantes testadas foram 25 g/L; 12,5 g/L; 6 g/L; 3 g/L; 1,6 g/L; 0,8 g/L; 0,4 g/L; 0,2 g/L; 0,1 g/L e 0,05 g/L, enquanto a do inóculo final ficou entre $1,5 \times 10^4$ UFC/ml e $1,5 \times 10^5$ UFC/ml.



As placas de 96 poços foram incubadas e avaliadas quanto à presença ou ausência de turvação, assim como validadas com controle negativo do meio e do meio com o composto, testado na primeira coluna, e positivo na 12ª coluna. Nos poços em que não houve turvação, foi considerado que houve inibição do crescimento bacteriano, a fim de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do sanitizante. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada posteriormente após inoculação de 5 µl na superfície de ágar MH a partir dos poços em que não houveram crescimento, a fim de revelar a menor concentração do sanitizante capaz de inviabilizar a multiplicação em meio propício novamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A média da CIM e CBM encontrada nos isolados foi de 1,72 g/L e 3,28 g/L, respectivamente, e a média do resultado de cada isolado encontra-se na tabela 1.

Tabela 1 - Suscetibilidade de isolados de *Escherichia coli* obtidos de queijos de produção informal frente ao hipoclorito de sódio.

Isolado testado	Média Concentração Inibitória Mínima (CIM) média (g/L)	Média Concentração Bactericida Mínima (CBM) média (g/L)
1	1,000	1,700
2	1,100	1,200
3	2,850	3,200
4	1,400	2,850
5	1,600	4,325
6	1,550	3,925
7	1,200	6,850
8	2,300	2,650
9	2,500	2,850
Total isolados	1,720	3,280

O hipoclorito de sódio pode ser encontrado para uso doméstico em concentrações entre 20-25 g/L, enquanto, segundo Kuaye (2017), a recomendação para sanitizar superfícies que contatam alimentos varia entre 0,15-0,25 g/L. De acordo com Menegaro *et al.* (2016), indústrias do ramo alimentício chegam a utilizar o hipoclorito de sódio em concentrações que variam entre 0,2-0,8 g/L para sanitização de utensílios e equipamentos, e 0,2-1,2 g/L em suas instalações. De acordo com os dados obtidos, mesmo as concentrações maiores do que as preconizadas não foram suficientes para eliminar *E. coli* oriundas de amostras de queijo.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

Os resultados servem de alerta para o problema, e mostra a necessidade de se testar também outros possíveis sanitizantes, pois o aumento na concentração do hipoclorito de sódio no tratamento de superfícies que entram em contato com alimentos pode não ser o ideal, tendo em vista que esse sanitizante possui potencial de corrosão, segundo Kuaye (2017).

4. CONCLUSÕES

Os isolados de *E. coli* oriundos de queijos de procedência desconhecida testados apresentaram resistência tanto nas concentrações utilizadas na indústria quanto às recomendadas pelos fabricantes de hipoclorito de sódio. Sendo assim, apenas os métodos de higienização atuais podem não ser suficientes para garantir a inocuidade dos alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, C. C. R. **Escherichia coli: Avaliação da suscetibilidade a sanitizantes de isolados de leite cru refrigerado e indução da formação de biofilmes de isolados de queijos de sistemas de produção convencional e orgânico**. 2023. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

BECKMAN, T. O., SOUZA, C. C. N. de, NASCIMENTO, K. L. A. do, JUNIOR, W. A. de S. A., SILVA, R. C. V. da, ROCHA, I. M., SAMPAIO, I. M., FERREIRA, A. P. R. O papel do Médico Veterinário Frente à Saúde Única - uma revisão. **Scientific Electronic Archives**, v. 16, n. 11, 2023.

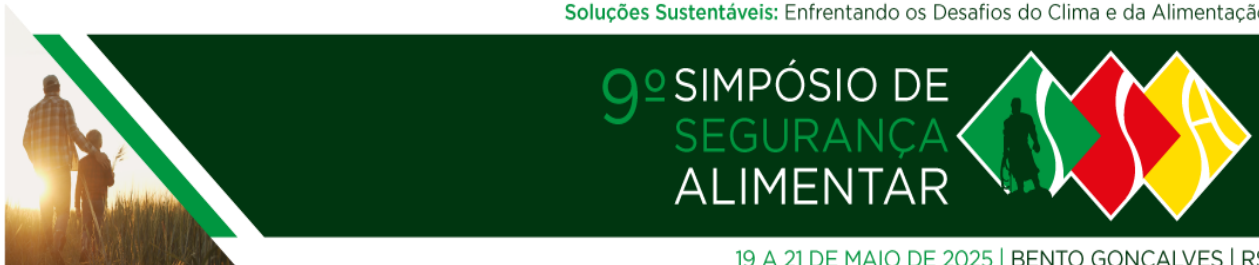
BRASIL. Surtos de doenças transmitidas hídrica e alimentar no Brasil Informe - 2014. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024/view>

CLSI (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Fifth edition. **Approved Standard M7–A6**. NCCLS, Wayne, PA. 2003.

DE BONA, E. de A. M., PINTO, F. G. da Silva, BORGES A. M. C., WEBER, L. D., FRUET, T. K., ALVES, L. F. A., DE MOURA, A. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v.12, n.3., 2010.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2003.

KLEIN, L. R., BISOGNIN, R. P., FIGUEIREDO, D. M. S. Estudo do perfil epidemiológico dos surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Rio Grande do Sul: uma revisão dos registros no estado. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 13, n. 25, p. 48-64, 2017.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

KUAYE, A. Y. **Limpeza e sanitização na indústria de alimentos** (1. ed.). Rio de Janeiro: Atheneu, 2017.

MENEGARO, A., FLORES, A. F., SIMER, P., SILVA, F. I. da, SBARDELOTTO, P. R. R., PINTO, E. P. Sanitizantes: concentrações e aplicabilidade na indústria de alimentos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 2, p. 171-174, 2016.

RIBEIRO, M. C., STELATO, M. M. **Microbiologia Prática: Aplicações de Aprendizagem de Microbiologia Básica - Bactérias, Fungos e Vírus** (2. ed.). São Paulo: Atheneu, 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M.; **Manual de Análise Microbiológica de alimentos e água** (5. ed). São Paulo: Blucher, 2017.

SILVA, W. E. de L. e, AMANSO, E. S., PEIXOTO, R. de M., GOUVEIA, J. J. de S., GOUVEIA, G. V., COSTA, M. M. da. Concentração Bactericida Mínima de desinfetantes comerciais frente a *Staphylococcus spp.* isolados de mastite em caprinos e detecção do gene icaD. **Cienc. anim. bras.**, v.20, p. 1-8, 2019.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia** (12. ed.). Porto Alegre: Artmed, 2017.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M., HAAS S., SOEIRO, M. L. T., RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, p. 44-48, 2010.