

# A importância da elaboração de procedimentos de higienização considerando a presença de biofilmes

Ana Cláudia Ribeiro Rossi e Ernani Porto

A higienização na indústria tem como objetivo garantir a qualidade microbiológica dos alimentos, para obtenção de produtos que não ofereçam riscos à saúde do consumidor. Procedimentos de higienização mal conduzidos podem gerar graves consequências, como a transmissão de doenças, além de prejuízos econômicos e perda de prestígio por parte do produtor. O procedimento de higienização nos equipamentos industriais é realizado em duas etapas: limpeza e sanitização. A limpeza tem como objetivo a remoção de resíduos orgânicos e minerais aderidos às superfícies, constituídos principalmente por proteínas, gorduras e sais minerais, com aplicação de detergentes ácidos e alcalinos. A sanitização visa a eliminação de micro-organismos patogênicos através da aplicação de agentes à base de diversos compostos químicos, como hipoclorito de sódio e quaternário de amônio.

Na natureza, os micro-organismos podem ser encontrados em duas formas: no estado planctônico, ou seja, livres, ou em biofilmes. Os biofilmes podem ser definidos como uma comunidade de micro-organismos aderidos a uma superfície, produzindo polímeros extracelulares (que formam uma matriz que envolve as células) e interagindo uns com os outros (5). Com a multiplicação celular, formação de microcolônias e consequente maturação, resíduos de alimentos e outros micro-organismos podem ser agregados ao biofilme. Na última década, as pesquisas têm intensa-

mente demonstrado que os biofilmes constituem o estilo de vida microbiana predominante.

Os biofilmes podem ser formados por diversos tipos de micro-organismos, deteriorantes ou patogênicos, dependendo do tipo de produto processado, e em diferentes tipos de superfícies, como aço inoxidável e borracha, materiais comumente utilizados nos equipamentos industriais.

As bactérias em biofilmes possuem fisiologia distinta de células livres. Além de se tornarem altamente resistentes aos processos de limpeza e sanitização, podem causar outros problemas, como entupir tubulações, atrasar o tempo de processamento nas plantas e iniciar a corrosão de equipamentos (3,7). Os biofilmes também são nichos ambientais para o desenvolvimento de resistência microbiana (4).

Os biofilmes constituem uma barreira física, protegendo as bactérias de detergentes e sanitizantes. A resistência intensificada das células no interior dos biofilmes também é atribuída a fatores como baixa taxa de crescimento das bactérias e neutralização de sanitizantes pela matriz polimérica, já que a mesma é constituída por matéria orgânica. Aquisição de resistência bacteriana pela exposição das células a concentrações subletais de sanitizantes no interior do biofilme também pode ocorrer. Dessa forma, as bactérias em biofilmes podem permanecer aderidas e sobreviver por longos períodos mesmo após procedimentos de higienização, representando uma fonte de contaminação para os alimentos, comprometendo a qualidade e segurança do produto final.

Diversas pesquisas demonstram que a habilidade de erradicar bactérias em biofilmes de superfícies industriais é significativamente menor do que a habilidade de destruir bactérias planctônicas. A resistência das populações bacterianas em biofilmes a antibióticos e biocidas pode ser de 100-1000 vezes maior do que a resistência de populações equivalentes de bactérias livres (4). Em pesquisa realiza-

Ana Cláudia Ribeiro Rossi  
Engenheira Agrônoma - Mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos - ESALQ/USP  
Ernani Porto - Pesquisador na área de Microbiologia  
de Alimentos da ESALQ/USP  
Artigo compilado do trabalho vencedor dentre as  
teses apresentadas no IV SINCCAL 2008



da por Norwood & Gilmour (2000) (6), biofilmes foram expostos a concentrações crescentes de hipoclorito de sódio (200, 500 e 1000 mg de cloro livre /L por 20 minutos). Uma redução de 2 ciclos logarítmicos nas contagens bacterianas foi atingida somente com exposição a 1000 mg de cloro livre /L. Numa cultura planctônica equivalente, 100% dos micro-organismos foram destruídos quando expostos a 10 mg de cloro livre /L por 30 segundos. Bolton et al (1988) (2) isolaram linhagens endêmicas de *Staphylococcus aureus*, de equipamentos utilizados no processamento de aves, oito vezes mais resistentes ao cloro do que linhagens de *S. aureus* isoladas de pele saudável. A grande diferença fenotípica entre estas linhagens era a extensa matriz polimérica associada com o equipamento.

O processamento moderno auxilia e seleciona a formação de biofilmes bacterianos em superfícies de contato com alimentos, devido à produção em massa com vastas superfícies para formação de biofilmes e prolongados ciclos de produção sem higienização intermediária (5). Geralmente, os sanitizantes são desenvolvidos com base em pesquisas que utilizam bactérias livres. Os testes convencionais que avaliam a eficácia dos sanitizantes são realizados com a utilização de bactérias em suspensão e os resultados podem ser pouco aplicados na prática, onde há a predominância de micro-organismos em biofilmes. Portanto, a concentração de produto ou tempo de contato utilizados durante procedimentos de higienização elaborados com base nestas pesquisas podem não ser suficientes para inativar as células em biofilmes. Além disso, os procedimentos de limpeza efetivos para a remoção de resíduos de alimentos não são necessariamente eficazes na remoção de biofilmes, em função das propriedades químicas dos polímeros da matriz, que diferem das propriedades das gorduras e proteínas alvos do processo de limpeza (1). Por exemplo, isolados de *Bacillus cereus* associados com equipamentos em laticínios produzem proteínas únicas, durante a aderência às superfícies, não encontradas em células planctônicas (5). Portanto, os procedimentos de higienização utilizados na indústria de alimentos devem ser elaborados considerando a presença de micro-organismos em biofilmes.

## Referências

- 1) ANTONIOU, K.; FRANK, J. F. Removal of *Pseudomonas putida* biofilm and associated extracellular polymeric substances from stainless steel by alkali cleaning. *Journal of Food Protection*, v.68, n.2, p. 277-281, 2005.
- 2) BOLTON, K. J.; DADD, C.E.R.; MEAD, G. C.; WAITES, W. M. Chlorine resistance of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from poultry processing plants. *Letters in Applied Microbiology*, v. 6, p. 31-34, 1988.
- 3) FAILLE, C.; FONTAINE, F.; BELLON-FONTAINE, M.; SLOMIANNY, C.; BENEZECH, T. Adhesion of *Bacillus* spores and *Escherichia coli* cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity. *Canadian Journal of Microbiology*, v.48, n.8, p.728-738, 2002.
- 4) GILBERT, P.; ALLISON, D.G.; MCBAIN, A.J. Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance? *Journal of Applied Microbiology*, v.92, suppl.1, p. 985-1105, 2002.
- 5) LINDSAY, D.; VON HOLY, A. What food professionals should know about bacteria biofilms. *British Food Journal*, v.108, n.1, p. 27-37, 2006.
- 6) NORWOOD, D.E.; GILMOUR, A. The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm. *Journal of Applied Microbiology*, v.88, n.3, p. 512-520, 2000.
- 7) PARKAR, S.G.; FLINT, S.H.; BROOKS, J.D. Evaluation of the effect of cleaning regimes on biofilms of thermophilic bacilli on stainless steel. *Journal of Applied Microbiology*, v.96, n.1, p. 110-116, 2004. ◆

