

III SEMANA DO CONHECIMENTO

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

ANÁLISE DE EPS E EFEITOS DE HIGIENIZAÇÃO EM BIOFILMES MULTIESPÉCIES FORMADOS EM AÇO INOXIDÁVEL

AUTOR PRINCIPAL: JONAS LUCAS KLEIN

CO-AUTORES: NATHANYELLE SORAYA MARTINS DE AQUINO, SARA SOUZA GEHLEN, BRUNA WEBBER, AMAURI PICOLLO DE OLIVEIRA, SUELEN CRISTINE ZANCO, HENRIQUE DE PAULA BILIBIO, LUCIANE DAROIT, LAURA BEATRIZ RODRIGUES, LUCIANA RUSCHEL DOS SANTOS.

ORIENTADOR: LUCIANA RUSCHEL DOS SANTOS

UNIVERSIDADE: UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

INTRODUÇÃO:

O Brasil é o maior exportador de carne de frango, por isso, o controle da higienização no abatedouro deve ser priorizado para garantir a inocuidade deste alimento. Falhas na higienização propiciam a adesão de microrganismos nas superfícies de equipamentos e/ou utensílios, denominada biofilme. Na natureza os microrganismos formam comunidades mistas, protegidas pela matriz polimérica extracelular (EPS). O EPS proporciona ao biofilme resistência à ação de sanitizantes e antibióticos, garantindo maior sobrevivência dos microrganismos. Neste contexto, avaliou-se a formação de biofilme multiespécie na superfície de aço inoxidável, nas temperaturas de refrigeração (3°C e 9°C), ambiente (25°C), ótima para mesófilas (36°C) e de termotolerância (42°C) em um intervalo de 24 horas. Além da quantificação de EPS e ação de tratamentos de higienização envolvendo o uso de água aquecida a 85°C, hipoclorito de sódio 2% e peróxido de hidrogênio 0,3%.

DESENVOLVIMENTO:

Para a formação dos biofilmes multiespécies, foram selecionadas bactérias previamente isoladas do ambiente avícola: *Salmonella* Enteritidis, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter jejuni*. Para adesão destes microrganismos utilizou-se

III SEMANA DO CONTEÚMENTO

377 DE OUTUBRO
2016

O aço inoxidável (AI) inoculado em microplacas estéreis de poliestireno de 12 poços segundo Webber (2015). As microplacas foram incubadas a $42\pm 1^\circ\text{C}$, $36\pm 1^\circ\text{C}$, $25\pm 1^\circ\text{C}$, $9\pm 1^\circ\text{C}$ e $3\pm 1^\circ\text{C}$, simulando as temperaturas do ambiente de processamento da carne de frango e de crescimento bacteriano, nos tempos de 4, 12 e 24 horas. Todos os ensaios foram realizados com três repetições. Em cada intervalo de tempo, quantificou-se a formação de biofilmes antes e após os tratamentos de higienização por 3 minutos em água estéril aquecida a 85°C e por 10 minutos em hipoclorito de sódio 2% e peróxido de hidrogênio 0,3%. A estimativa da formação de EPS foi realizada em cada tempo pré-determinado utilizando metodologias de purificação das amostras (JIN et al., 2013) e quantificação de carboidratos (DUBOIS et al., 1956). Os resultados demonstrados na Figura 1A, revelam que todas as cepas, com exceção do *C. jejuni* foram capazes de formar biofilmes multiespécies nas diferentes condições ambientais testadas. O aço inoxidável é considerado o material de escolha nas indústrias alimentícias, por uma maior facilidade no processo de limpeza e desinfecção, quando comparado com a ampla variedade de polímeros, além de possuir menos porosidades em sua superfície (ANDRADE, 2008). No entanto, o mesmo foi facilmente aderido pelas bactérias, demonstrando que o processo de higienização das superfícies é mais eficaz na prevenção do biofilme, do que a própria topografia do material. Na Figura 1B, pode-se notar que a partir de 12 horas de incubação já havia crescimento microbiano em temperaturas de refrigeração. Isto revela um problema para a indústria de alimentos, pois microrganismos mesófilos conseguiram através do biofilme, garantir sua sobrevivência em baixas temperaturas. Os maiores valores de log foram observados com um maior tempo de contato e temperaturas mais altas. Todos os tratamentos de higienização foram capazes de reduzir a população inicial (Figura 2), destacando a água quente a 85°C e o hipoclorito que reduziram a valores inferiores a $0,3 \log_{10}\text{UFC}/\text{cm}^2$, estando de acordo com os parâmetros estabelecidos pela APHA (2014). Com relação à produção de EPS (Figura 1C), notou-se que em 4 horas de incubação obtiveram os maiores valores. Isto revelando a importância deste componente do biofilme na adesão e adaptação dos microrganismos. Com o passar do tempo, houve uma tendência na diminuição do EPS. Possivelmente isto ocorreu pelo fato de que, com o passar do tempo, as células se multiplicaram, acarretando em escassez de alimentos, sendo necessária a utilização da matriz como fonte de nutrientes (ZHANG et al., 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A formação de biofilmes no aço inoxidável foi observada nas diversas condições testadas. No entanto, o mesmo apresentou-se como uma superfície de fácil higienização, sendo o hipoclorito de sódio 2% e a água aquecida a 85°C os tratamentos mais eficazes. A formação de biofilme sob refrigeração é um alerta para a indústria já que são temperaturas consideradas seguras para conservação dos alimentos.

REFERÊNCIAS:

- ANDRADE, N. J. de. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle de adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: 2008.
- APHA. American Public Health Association, 2014. [Internet].

Universidade e comunidade
em transformação

III SEMANA DO CONTECIMENTO

3 a 7 DE OUTUBRO
DE 2016

DUBOIS, M. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, 1956.

JIN, H. J. Biofilm formation and exopolysaccharide (EPS) production by *Cronobacter sakazakii* depending on environmental conditions. **Food Microb.**, 2013.

WEBBER, B. Dinâmica de formação de biofilmes por *S. Enteritidis* sob diferentes temperaturas e o efeito de tratamentos de remoção. Dissertação.

ZHANG, P. Extracellular protein analysis of activated sludge and their functions in wastewater treatment plant by shotgun proteomics. **Scientific reports**, 2015.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Número da aprovação.

ANEXOS:

Figura 1- Médias individuais dos microrganismos *Salmonella* Enteritidis (P24), *Campylobacter jejuni* (CJ134), *Escherichia coli* (C7) e *Listeria monocytogenes* (L4) nos biofilmes multiespécies (A), influências das temperaturas na formação dos biofilmes (B) e produção de EPS em todos os tempos e temperaturas testadas na superfície de aço inoxidável (C).

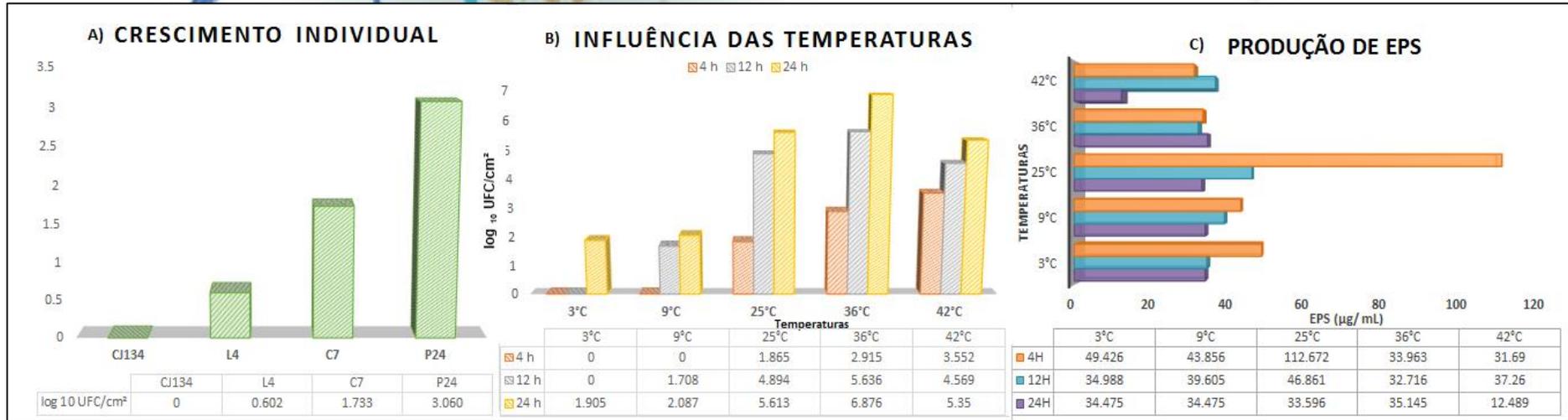


Figura 2- Remoção do biofilme multiespécie em aço inoxidável utilizando diferentes procedimentos de higienização.

