

# 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 CONHECIMENTO

37 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  $85^\circ\text{C}$  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  $85^\circ\text{C}$  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  $85^\circ\text{C}$  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.

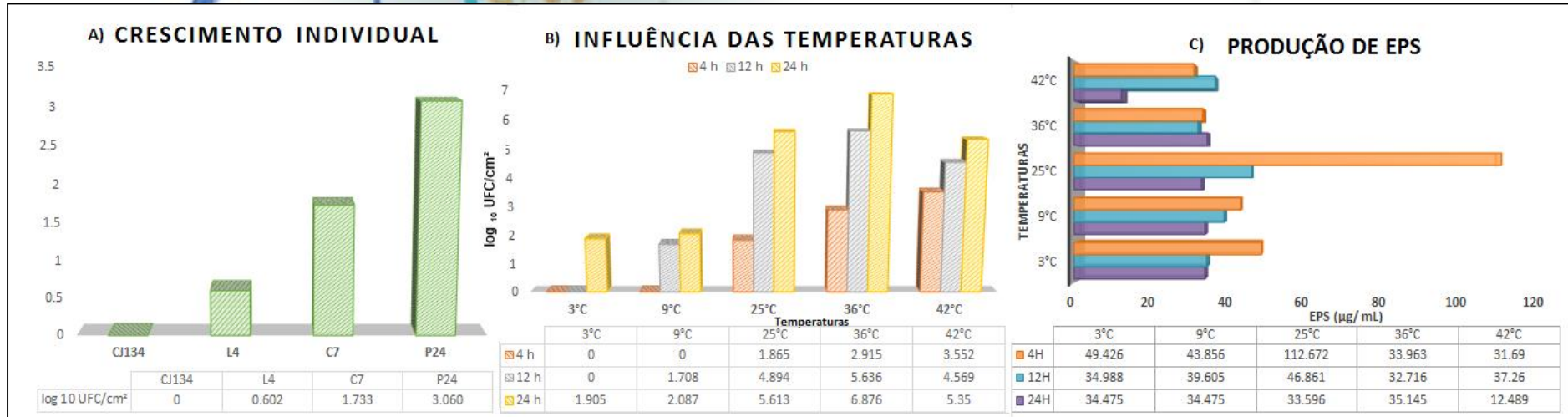
WEBBER, B. Dinâmica de formação de biofilmes por *S. Enteritidis* sob diferentes temperaturas e o efeito de tratamentos de remoção. Dissertação.

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.

