

18 > Biofilmes na indústria alimentar

D. Rodrigues¹, E. de Martinis², P. Teixeira^{1*}

¹IBB - Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal,

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. do Café s/n, Monte Alegre, 14040-903 Ribeirão Preto, SP, Brasil

*e-mail do autor correspondente: pilar@deb.uminho.pt

18.1 > Introdução

A presença de biofilmes é comum na indústria alimentar, encontrando-se em todos os tipos de superfícies existentes nas linhas de processamento de alimentos, desde plástico, vidro, metal e madeira, até aos próprios produtos alimentares.

Apesar da formação de biofilme poder ter aplicações benéficas no âmbito desta indústria (por exemplo; é possível aumentar significativamente o rendimento de produção por processos de fermentação ao utilizar culturas microbianas imobilizadas pela formação de biofilmes, as quais são capazes de suportar altas concentrações de ácido e baixas concentrações de oxigénio frequentemente associadas aos processos de fermentação), a adesão das bactérias aos produtos alimentares ou às superfícies de contato com alimentos pode também causar sérios problemas de higiene e perdas económicas devido à deterioração dos alimentos. Além disso, é também reconhecida a persistência de vários agentes patogénicos

alimentares em superfícies de contato com os alimentos. Por estas razões, a presença de biofilmes nos sistemas alimentares é considerada um sério risco para a saúde pública em geral.

Um dos principais problemas da indústria alimentar consiste na sobrevivência dos patogénicos alimentares, ou dos microrganismos que causam a deterioração dos alimentos, devido a uma desinfeção insuficiente das superfícies ou instrumentos que entram em contato com os alimentos. Os biofilmes formados nessas superfícies são a principal causa de contaminação do produto final, tendo como consequências a rejeição do produto, perdas económicas e até mesmo doenças caso estejam envolvidos agentes patogénicos alimentares. Estudos recentes em relação à composição microbiana destes biofilmes revelaram que os mesmos são frequentemente formados por vários microrganismos e apontam os biofilmes contendo patogénicos como uma das principais causas de contaminação de produtos alimentares e transmissão

1 de doenças. Além disso, são ainda causadores
2 de problemas consideráveis de contaminação
3 cruzada e de contaminação pós-processamento.
4 Por outro lado, os biofilmes são muitas vezes os
5 responsáveis por bloqueios mecânicos e por
6 interferências nos processos de transferência
7 de calor, assim como pelo aumento da taxa de
8 corrosão das superfícies. Em sistemas de água
9 potável, por exemplo, podem provocar o entu-
10 pimento das canalizações levando à diminuição
11 da velocidade e da capacidade de carga, o que
12 implica o aumento de utilização de energia
13 (ver Capítulo 17). Similarmente, a formação de
14 biofilmes em permutadores de calor e torres de
15 arrefecimento pode reduzir a transferência de
16 calor e a sua eficiência. Além disso, a capacidade
17 das bactérias persistirem em biofilmes formados
18 em superfícies metálicas das instalações de
19 processamento pode ainda causar a corrosão
20 da superfície devido à produção de ácido por
21 parte das bactérias.

22 Devido a toda esta problemática em torno
23 dos biofilmes formados nos produtos alimenta-
24 res e nas superfícies de contato com alimentos,
25 os mecanismos de formação de biofilmes micro-
26 bianos na indústria de processamento alimentar
27 têm-se tornado num tema fulcral nos últimos
28 anos. Neste âmbito, o presente capítulo pre-
29 tende apresentar aspetos gerais sobre os prin-
30 cipais agentes patogénicos alimentares e suas
31 implicações em diferentes setores industriais,
32 dando particular ênfase à adesão e formação
33 de biofilme por parte de *L. monocytogenes* e
34 *Salmonella enterica* em superfícies de contato
35 com alimentos.

36
37

38 18.2 > Patogénicos 39 alimentares

40

41 A transmissão de agentes patogénicos por ali-
42 mentos é um problema crescente para a saúde
43 pública em todo mundo e essas doenças são

causadas principalmente por bactérias, vírus,
parasitas e contaminantes químicos. Além disso,
as perdas económicas decorrentes das doenças
transmitidas por alimentos são da ordem de
bilhões de dólares anualmente. Milhões de
crianças de países em desenvolvimento mor-
rem em consequência de doenças diarreicas
causadas por microrganismos, principalmente
de transmissão hídrica e alimentar. Em países
industrializados, estima-se que anualmente, uma
em cada três pessoas seja afetada por doenças
transmitidas por alimentos.

Segundo o Centro de Controlo de Doenças
e Prevenção (CDC), dos 48 milhões de doenças
estimadas por ano, 9,4 milhões são devidas a
31 agentes patogénicos conhecidos de origem
alimentar. Os restantes 38 milhões resultam de
agentes de doenças não especificadas, que
incluem agentes conhecidos, sem dados sufi-
cientes para serem feitas estimativas específicas,
agentes ainda não reconhecidos como causado-
res de doença de origem alimentar e agentes
ainda não descobertos. Nos Estados Unidos,
de entre as doenças transmitidas por alimentos
contaminados com patogénicos conhecidos a
Salmonella foi a principal causa de internamento
e de morte, responsável por cerca de 28% das
mortes e 35% das hospitalizações; cerca de 90%
das doenças estimadas, hospitalizações e mortes
foram devidas a sete agentes patogénicos - *Sal-
monella*, norovírus, *Campylobacter*, *Toxoplasma*,
E. coli O157, *Listeria* e *Clostridium perfringens* - e
cerca de 60% das doenças estimadas, mas numa
proporção bem menor de doença grave, foi cau-
sada por norovírus. Como consequência, os pro-
gramas de controlo da qualidade microbiológica
estão, cada vez mais, a ser aplicados ao longo
de toda a cadeia alimentar, com o intuito de se
minimizar o risco de infeção para o consumidor.

BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS

Salmonella spp. é um bastonete do género das
enterobactérias, é oxidase-negativa e catalase-

1 positiva. *Salmonella typhi* é o agente da febre
2 tifóide, enquanto linhagens não tifóides podem
3 causar principalmente enterocolite caracterizada
4 por febre aguda, dor abdominal, diarreia, náuseas
5 e vômitos ocasionais. Os principais alimentos
6 associados a enterocolites por *Salmonella* são os
7 ovos; carnes de vaca, aves, peru e frango; peixes;
8 presunto e salsichas. Atualmente existem mais de
9 2500 tipos serótipos conhecidos de *Salmonella*,
10 mas *Salmonella enterica* serótipos Enteritidis e
11 Typhimurium são os mais comumente associa-
12 dos a enterocolites. A incidência de *Salmonella*
13 entre os diversos países é muito variável: em
14 alguns países, esta bactéria não foi detectada,
15 enquanto outros países tiveram prevalência
16 de até 80%. Durante várias décadas, o serótipo
17 Typhimurium foi o serótipo predominante, no
18 entanto, *S. Enteritidis*, tem sido referido como
19 um importante serótipo em infecções humanas
20 e em contaminação de galinhas. Considera-se
21 que a maioria dos surtos estão associados à
22 contaminação cruzada e tratamento térmico
23 inadequado, fortemente associado ao uso de
24 ovos crus e que ocorrem mais provavelmente
25 na primavera e verão. Tem sido destacado o
26 aparecimento de novas estirpes de *Salmonella*
27 multirresistentes a antibióticos, o que constitui
28 um grave problema de saúde pública em grande
29 parte do mundo e que enfatiza a importância
30 de programas de vigilância e controlo eficientes.

31 *Campylobacter* sp. é reconhecida em muitos
32 países como a principal causa de gastroenterite
33 bacteriana de origem alimentar em seres huma-
34 nos. É um género de bactéria móvel, com flagelos
35 uni ou bi-polares, tem uma forma um pouco
36 curvada, o aspeto de bastonete e é oxidase-
37 positiva. Pelo menos uma dezena de espécies de
38 *Campylobacter* tem sido associada a doenças no
39 Homem, sendo as mais comuns *C. jejuni* e *C. coli*.
40 A maioria dos casos de infecções entéricas cau-
41 sados por *Campylobacter* é causada por *C. jejuni*
42 (80-90%), ocorrendo principalmente como casos
43 esporádicos. Carnes de aves, água e produtos

lácneos não pasteurizados são os veículos mais
importantes para a infeção por *Campylobacter*
spp.. A contaminação cruzada de alimentos é
muito comum, pois *Campylobacter* spp. está
presente no trato intestinal de muitos animais,
passando depois para as suas fezes e se não forem
adotadas medidas adequadas de controlo pode
ocasionar a infeção em seres humanos.

E. coli é membro da família *Enterobacteriaceae*, abundante em fezes humanas e de animais e geralmente não se encontra noutros nichos sendo, por isso, utilizada como um indicador de contaminação fecal. A maior parte dos serótipos de *E. coli* não é patogénica, mas há um grupo de *E. coli* enterovirulento: *E. coli* enterotoxigénica - ETEC, *E. coli* enteropatogénica - EPEC, *E. coli* enteroinvasora - EIEC e *E. coli* enterohemorrágica - EHEC. Para a segurança de alimentos, *E. coli* enterohemorrágica, serótipo O157:H7, é a uma das mais preocupantes. *E. coli* O157:H7 produz uma poderosa toxina que pode causar doenças muito graves, nomeadamente um quadro agudo de colite hemorrágica, causando danos muito sérios na mucosa intestinal. Os pacientes apresentam cólicas abdominais intensas e diarreia, inicialmente líquida, mas que se torna hemorrágica na maioria dos pacientes. Ocasionalmente ocorrem vômitos e a febre é baixa ou ausente. Alguns indivíduos apresentam somente diarreia líquida. Esta bactéria foi encontrada no intestino de gado saudável, veados, cabras e ovelhas e constitui uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos.

BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS

Listeria monocytogenes é um patogénico de origem alimentar que constitui uma grande preocupação para a indústria alimentar. É uma bactéria móvel por meio de flagelos e que pode ser amplamente encontrada em produtos alimentares, incluindo matérias-primas (leite, carne, queijo, farinha e outros) e produtos acabados que podem ter sido contaminados pós-

1 processamento. *L. monocytogenes* causa a liste-
2 rirose, cujas manifestações incluem septicemia,
3 meningite (ou meningoencefalite), encefalite,
4 úlcera da córnea, pneumonia e infecções intra
5 uterinas ou cervicais em mulheres grávidas, o
6 que pode resultar em abortos espontâneos (2º-
7 3º trimestre) ou em nados-mortos. Mais recen-
8 temente, também têm sido associados casos de
9 gastroenterite a infecções por *L. monocytogenes*.
10 A listeriose em humanos é rara, com menos de
11 dez casos por um milhão de pessoas, no entanto
12 é preocupante devido à sua elevada taxa de
13 letalidade de cerca de 20%. Este microrganis-
14 mo é capaz de multiplicar-se em temperaturas
15 de refrigeração (tão baixas como - 1,5 °C), em
16 concentrações de sal até 30% e em valores de pH
17 abaixo de 5,0. Estas características contribuem
18 para a sua sobrevivência em condições que são
19 normalmente usadas para se controlar o cresci-
20 mento de patogênicos nos alimentos.

21 *Bacillus cereus* é uma bactéria aeróbia facul-
22 tativa, formadora de esporos, causadora de dois
23 tipos de doenças gastrointestinais: (i) diarreica,
24 que é causada por uma proteína de peso mole-
25 cular elevado, termo-lábil e (ii) emética, causada
26 por uma proteína de baixo peso molecular – um
27 péptido termo-estável denominado cereulida.
28 Os surtos alimentares por este patogênico têm
29 sido associados a alimentos como carne, peixes,
30 vegetais, arroz, leite, queijos, massas e alimentos
31 com molhos (pudins, assados, saladas).

32 *Staphylococcus aureus* é um dos principais
33 agentes de gastroenterite resultante do consu-
34 mo de alimentos contaminados. É uma bactéria
35 esférica (coco) que aparece aos pares no exame
36 microscópico, em cadeias curtas ou em cachos
37 similares aos da uva ou em grupos, anaeróbia
38 facultativa, não formadora de esporos, sem
39 motilidade e catalase e coagulase positivas. *S.*
40 *aureus* é capaz de crescer numa faixa ampla de
41 temperaturas, concentrações de pH e de cloreto
42 de sódio (até 15% de NaCl). Os alimentos que são
43 frequentemente responsáveis por intoxicações

alimentares por *S. aureus* incluem produtos de
carne, aves e ovos, saladas, produtos de panifica-
ção (principalmente bolos com natas ou cremes
de leite e ovos), recheios de sanduíche, leite e
produtos lácteos. No entanto, normalmente,
estes alimentos foram contaminados pelo Ho-
mem através de ferimentos nas mãos ou outras
lesões, garganta ou nariz. Produz uma série de
toxinas que, quando ingeridas, podem provocar
vômitos, diarreia e mal-estar geral.

Clostrídeos são bacilos anaeróbios, forma-
dores de esporos, amplamente distribuídos na
natureza, sendo encontrados com frequência
no solo, em legumes, verduras, frutas, intestino
e fezes humanas e animais. As espécies de im-
portância em Microbiologia de Alimentos são
Clostridium perfringens e *Clostridium botulinum*.
Clostridium perfringens pode causar doença
diarreica pela produção de toxina, quando há
ingestão de grande número de células vege-
tativas em alimentos, sendo comum em surtos
causados por esta bactéria o envolvimento
de carnes em pedaços grandes, mal cozidas
e mantidas com alterações da temperatura.
Clostridium botulinum é um bacilo flagelado,
anaeróbio estrito, encontrado com frequência
no solo, em legumes, verduras, frutas, fezes
humanas e excrementos animais. Produz uma
neurotoxina responsável pelo botulismo, que
ocorre subitamente e se caracteriza por manifes-
tações neurológicas decorrentes da inibição da
transmissão de impulsos nervosos nas junções
neuromusculares e apresenta elevada letalida-
de. Habitualmente adquire-se pela ingestão
de alimentos contaminados, como enchidos e
conservas em latas e vidros.

PATOGÊNICOS ALIMENTARES EMERGENTES

Há um elevado número de fatores envolvidos
na emergência ou reemergência de patogê-
nicos associados a doenças transmitidas por
alimentos. Estes incluem fatores relacionados

1 com o ambiente, como as alterações climáticas
2 e a desflorestação; fatores relacionados com os
3 alimentos, tais como alterações na sua produção
4 (agricultura orgânica, confinamento de gado) e
5 nas práticas de distribuição; fatores relacionados
6 com o consumidor, tais como o aumento de
7 viagens internacionais, mudanças do perfil de-
8 mográfico (maior proporção de idosos, crianças,
9 imuno-comprometidos - por ex. portadores de
10 HIV, cancro, diabetes) e as mudanças nos hábitos
11 alimentares (preferência por alimentos minima-
12 mente processados) e, por último, os fatores
13 relacionados com os próprios patogénicos, tais
14 como alterações genéticas nos microrganismos
15 resultantes da exposição ao stress ambiental
16 e aumento da resistência aos antibióticos. Um
17 outro fator importante é o aumento da globaliza-
18 ção no fornecimento de alimentos, o que resulta
19 na transferência dos agentes patogénicos entre
20 os vários países. Além disso, o uso de antimicro-
21 bianos no tratamento de animais tem contribuí-
22 do para o aparecimento de estirpes bacterianas
23 resistentes a vários antibióticos. As potenciais
24 doenças devidas a patogénicos alimentares
25 incluem a hepatite, causada principalmente por
26 vírus; a gripe aviária, causada pelo vírus influen-
27 za (H1N1); a espiroquetose intestinal causada
28 por *Brachyspira pilosicoli*, uma micose cutânea
29 causada pela Larva *migrans* devida à migração
30 de larvas de ancilostomídeos na pele humana
31 quando a pele entra em contato direto com solo
32 contaminado ou areia e a anisakiase humana que
33 é uma parasitose gastrointestinal resultante da
34 ingestão acidental de larvas infeciosas de nemá-
35 todes da família *Anisakidae* (aumentou no Brasil
36 devido ao consumo de pescado cru na forma
37 de sushi e sashimi). Outros potenciais agentes
38 patogénicos emergentes incluem *Helicobacter*
39 spp. não-gástricas, a *Cronobacter* spp., espécies
40 de *Campylobacter* não-jejuni/coli, e *E. coli* não-
41 O157 produtoras da toxina Shiga. No caso da
42 *Cronobacter* spp., este patogénico oportunista
43 pode causar doença grave em recém-nascidos,

caracterizada por meningite, enterocolite necro-
sante, septicémia e morte. Este organismo já foi
isolado de vários alimentos e a sua presença em
fórmulas infantis desidratadas para alimentação
de recém-nascidos causa uma preocupação
especial.

Para se evitar a propagação destas doen-
ças emergentes transmitidas por alimentos é
necessária uma maior sensibilização para os
correspondentes agentes patogénicos, uma
melhor educação do consumidor, alterações na
produção dos alimentos e nas práticas de manu-
seamento desses alimentos desde a quinta até
à mesa, bem como uma melhoria dos métodos
de deteção microbiológica.

18.3 > Presença de biofilmes na indústria alimentar

A colonização das superfícies de processamento
de alimentos pode ocasionar diversos proble-
mas na indústria alimentar, tanto de ordem
económica como de saúde pública. A falta de
eficiência dos procedimentos de higienização
e limpeza permite a adesão de microrganismos
e, muitas vezes, o desenvolvimento de biofilmes
nessas superfícies, o que constitui uma potencial
fonte de contaminação dos alimentos. De fato,
sabe-se que as células em biofilme são até 1
000 vezes mais resistentes aos agentes antimicro-
bianos do que as células em suspensão, o
que agrava imenso este problema. Observou-se
que biofilmes de estirpes de *Pseudomonas aeru-
ginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis*
são cerca de 10 a 100 vezes mais resistentes a
desinfetantes usados na indústria alimentar do
que células em suspensão.

Os biofilmes podem desenvolver-se nas tu-
bagens, nos drenos, em juntas, nos circuitos de
água e de esgotos, nos permutadores de calor,
nas superfícies de embalagem dos produtos,

1 etc, formando-se em todas as superfícies inertes
2 como o plástico, aço inoxidável, vidro, madeira,
3 borracha, fórmica, ferro, mármore, granito, entre
4 outras. O material mais usado na indústria ali-
5 mentar é o aço inoxidável devido à sua elevada
6 resistência mecânica e resistência a agentes
7 desinfetantes como o hipoclorito de sódio, o
8 ácido peracético, entre outros. É um material de
9 fácil tratamento mecânico e eletrostático, sendo
10 assim fácil de “alisar” para evitar a formação de
11 biofilmes. Utiliza-se tanto em superfícies de pro-
12 cessamento de alimentos como em tubagens
13 ou ainda em equipamento. No entanto, fissuras,
14 riscos, rachas, “pontos mortos”, cantos, válvulas,
15 articulações e juntas, são pontos vulneráveis para
16 a formação de biofilmes. Mangueiras, tubos ou
17 filtros de cloreto de polivinilo (PVC) são ainda
18 mais vulneráveis à formação de biofilmes do
19 que o aço e são mais facilmente deterioráveis.
20 Por outro lado, os biofilmes podem também
21 ocorrer em matérias-primas, de origem animal
22 ou vegetal. Dado o crescente interesse por dietas
23 saudáveis, tem-se verificado um aumento da
24 procura de produtos frescos por parte dos con-
25 sumidores (frutas, verduras e legumes de fácil
26 preparo e consumo). Neste sentido, a indústria
27 de processamento mínimo de vegetais tem-se
28 expandido, observando-se uma correlação po-
29 sitiva entre a intensificação do consumo destes
30 alimentos e o aumento do número de surtos
31 de intoxicações alimentares a eles relacionados.

32 A presença de biofilmes na indústria alimen-
33 tar é particularmente problemática na indústria
34 de laticínios; processamento de carnes verme-
35 lhas, de aves e de pescados; indústria cervejeira
36 e na indústria de processamento de produtos
37 frescos. Neste ponto serão destacadas as indús-
38 trias de laticínios, carnes e pescados.

39

40 A INDÚSTRIA DE LACTICÍNIOS

41 De entre as indústrias mais afetadas pode
42 salientar-se a indústria de laticínios. Nesta in-
43 dústria, patógenos alimentares provenientes

dos sistemas de ordenha, de origem fecal, das
águas de lavagem das vacarias ou dos sistemas
de armazenamento podem chegar às linhas de
processamento e contaminar toda a linha, desde
as tubagens, tanques de armazenamento do leite
até ao próprio leite e derivados. A contaminação
dos produtos lácteos já pasteurizados acontece
nas máquinas de enchimento ou devido a bio-
filmes presentes nas juntas. Nesta indústria as
superfícies de borracha constituem um ponto
crítico. Num estudo de 1977, verificou-se que as
peças de borracha da máquina de ordenha con-
tinham de 10 a 117 vezes mais bactérias do que
as partes metálicas dessas mesmas máquinas.
Pseudomonas são as principais bactérias Gram
negativas responsáveis pela deterioração do
leite através da produção de enzimas lipolíticas e
proteolíticas que degradam os componentes do
leite. Muitas destas enzimas permanecem ativas,
mesmo após as etapas de processamento térmi-
co que podem destruir os microrganismos que as
produzem, o que é completamente indesejável.
A prevalência destas bactérias sobre outras (cerca
de 50%) pode explicar-se pela sua capacidade
de crescerem e de se multiplicarem a baixas
temperaturas, nomeadamente, a temperaturas
de refrigeração - são bactérias psicrotróficas.

Foram isoladas do leite outras bactérias
Gram-negativas, sendo as espécies de *Entero-*
bacter e *Klebsiella* as mais frequentes. Segundo
o mesmo estudo, também têm sido isoladas
bactérias Gram-positivas, estando, no entanto,
presentes em menor número. As espécies
Gram positivas mais frequentes são os *Bacillus*,
Micrococcus e *Arthrobacter*. Dentro deste úl-
timo grupo é de salientar a importância dos
Lactobacillus devido à sua grande capacidade
de adesão e de formação de biofilme, e ainda
porque algumas estirpes de *Lactobacillus lactis*
são capazes de produzir 3-metilbutanal a partir
da leucina, conferindo um sabor maltado ao
leite. *L. monocytogenes* é uma bactéria pouco
encontrada na indústria de laticínios mas que

1 constitui um grande desafio para os respon-
2 sáveis pela segurança alimentar devido à sua
3 relativamente elevada taxa de mortalidade.
4 Têm sido isoladas repetidamente estirpes de *L.*
5 *monocytogenes* em tanques de armazenamento
6 de leite a granel, as quais têm demonstrado uma
7 boa capacidade de formarem biofilme, resultan-
8 do na contaminação de produtos alimentares.
9 Como já foi referido, este fato resulta da sua
10 natureza psicrotrófica e da sua capacidade de
11 persistir nas superfícies durante muito tempo.
12 Os surtos alimentares devido à ingestão de leite
13 ou de derivados contaminados parecem ser, se-
14 gundo os especialistas, devido a biofilmes, uma
15 vez que ocorrem esporadicamente e não de
16 uma forma contínua. Aconteceu, por exemplo,
17 com os surtos devido a espécies de *Salmonella*
18 presentes em leite em pó e a *L. monocytogenes*
19 presente em queijo.

20 Mais recentemente, tem aumentado a preo-
21 cupação com a contaminação por *Cronobacter*
22 *spp.* na indústria de processamento de alimentos,
23 principalmente de leite e fórmulas infantis desi-
24 dratadas, com a colonização de equipamentos
25 industriais. Já foi evidenciado que este patogéni-
26 co é capaz de formar biofilme e pode colonizar
27 tubos de alimentação e equipamentos utilizados
28 no preparo dos alimentos infantis tais como
29 escovas, liquidificadores e colheres.

31 A INDÚSTRIA DAS CARNES

32 Na indústria das carnes o perigo de contami-
33 nação começa logo com o abate dos animais.
34 Nesta fase, a presença de matéria fecal dos ani-
35 mais abatidos pode contaminar a carne que vai
36 ser processada e embalada com níveis elevados
37 de bactérias, como *E. coli*, *Salmonella*, *Campylo-*
38 *bacter* ou *L. monocytogenes*. Vários estudos têm
39 demonstrado a presença de microrganismos
40 patogénicos em carnes. Por exemplo, foram re-
41 colhidas amostras de carne picada de indústrias
42 de carne ao longo de todos os EUA e verificou-
43 se que 7,5% das amostras de carne estavam

contaminadas com *Salmonella*, 11,7% estavam
contaminadas com *L. monocytogenes*, 30% com
Staphylococcus aureus e 53,3% com *Clostridium*
perfringens. Em termos de segurança alimentar,
na indústria de carnes, *L. monocytogenes* é o
microrganismo mais problemático devido à
sua capacidade de sobreviver e até de crescer à
temperatura de refrigeração, ou nos produtos
de carne já prontos e embalados a vácuo ou
em atmosfera modificada. De facto, verificou-se
que esta bactéria pode ser encontrada em áreas
de processamento de carne, mesmo com uma
incidência muito elevada. A sua sobrevivência,
que pode ser de anos, faz com que as linhas de
processamento da carne possam ser contamina-
das durante, por exemplo, o processo de corte.

A INDÚSTRIA DE PESCADOS

Na indústria de pescados há descrição da ocor-
rência de bactérias persistentes, indicando que
microrganismos em biofilmes são importantes
contaminantes nestes ambientes de proces-
samento. Há dados sobre a prevalência de *L.*
monocytogenes em peixe tropical surubim
(*Pseudoplatystoma sp.*) defumado minimamente
processado, que revelam que 5% das embla-
gens se encontram contaminadas com *L. mo-*
nocytogenes, tendo sido demonstrado por RAPD
(do inglês Random Amplification of Polymorphic
DNA – ver Capítulo 34) que as linhagens isoladas
são do mesmo subtipo de linhagens isoladas na
mesma fábrica há quatro anos.

Num estudo sobre a ecologia microbiana
de diferentes indústrias processadoras de pes-
cados foi demonstrado que os microrganismos
predominantes em locais de processamento
de salmão defumado a frio são *Pseudomonas*,
Neisseriaceae, *Enterobacteriaceae*, *Coryneform*,
Acinetobacter e bactérias lácticas, enquanto na
produção de arenque semi-conservado são
Pseudomonas, *Alcaligenes*. Por sua vez, na indús-
tria processadora de salmão foram encontrados
predominantemente *Enterobacteriaceae*, *Psycho-*

1 *bacter*, *Staphylococcus* e leveduras. Também se
2 detetou *Listeria* sp. em todas as indústrias de
3 pescado pesquisadas. Muitos destes microrga-
4 nismos eram contaminantes provenientes da
5 matéria-prima tendo-se observado que, mesmo
6 após limpeza e desinfecção, alguns destes micror-
7 ganismos ainda persistiam no local de processa-
8 mento, sendo essencial o aperfeiçoamento de
9 métodos de limpeza e desinfecção, considerando
10 principalmente os microrganismos mais persis-
11 tentes e potenciais contaminantes do produto.

12 Na identificação da microbiota aderida a su-
13 perfícies de processamento de camarão e peixe
14 e no estudo da adesão de *L. monocytogenes* e
15 bactérias Gram-negativas em superfícies de aço
16 inoxidável (sem tratamento, polidas e tratadas
17 com pérolas de vidro) verificou-se que os géne-
18 ros predominantes são *Pseudomonas* spp. (66%)
19 na indústria de camarão e *Enterobacteriaceae*
20 (27%) na indústria de peixe. Quando se analisou a
21 influência de culturas de microrganismos Gram-
22 negativos isolados de amostras da indústria de
23 camarão sobre a adesão de *L. monocytogenes* a
24 superfícies de aço inoxidável constatou-se que
25 o maior número de células aderidas foi obtido
26 com contaminação por cultura mista de *L. mo-
27 nocyto*genes e *Serratia liquefaciens*. Observou-se
28 ainda que a colonização por *L. monocytogenes*
29 aumentou significativamente na presença de
30 cultura mista de *Pseudomonas* spp.. Por outro
31 lado, verificou-se também que não houve
32 influência da rugosidade da superfície do aço
33 inoxidável na adesão bacteriana, pelo que se
34 concluiu que superfícies mais lisas não são ne-
35 cessariamente superfícies mais higiénicas.

36
37

38 **18.4 >Fatores envolvidos** 39 **na formação de biofilmes** 40 **de *Listeria* e *Salmonella***

41
42
43

A adesão e formação de biofilmes bacterianos depende de numerosos fatores, entre eles, fato-

res ambientais, morfológicos, fisiológicos e ge-
néticos que regulam e/ou afetam estes proces-
sos biológicos. Neste ponto serão apresentados
alguns dos fatores envolvidos na colonização de
superfícies e desenvolvimento de biofilmes de *L.
monocytogenes* e *S. enterica* Enteritidis.

LISTERIA MONOCYTOGENES

A capacidade que as células de *L. monocyto-
genes* têm para aderir e, subsequentemente,
formar biofilmes em superfícies bióticas e
abióticas em ambientes de processamento
alimentar tem sido bem documentada. Con-
tudo, tem-se notado a existência de diferenças
quer a nível da extensão e taxa de adesão quer
a nível da formação de biofilme dependendo
da superfície selecionada, pré-tratamento da
superfície alvo, condições ambientais e de
crescimento, pH, temperatura, etc.. Além disso,
foi já reportado que a maioria das estirpes de
L. monocytogenes poderá não formar biofilmes
em monocultura e não se encontrou nenhuma
relação entre a persistência em ambientes de
processamento, a origem da estirpe (alimentar
ou clínica) e o subtipo da estirpe (serótipo ou
linhagem) em relação à adesão e formação de
biofilme. Outros estudos focados na formação
de biofilme a longo-termo mostraram que
este é um organismo pobre no que respeita
à adesão e formação de biofilme, o que levou
a sugerir que estas estirpes poderão usar uma
bactéria colonizadora primária de uma espécie
diferente para formar um consórcio de biofilmes
numa superfície. Dois grupos de investigação
observaram que a formação de biofilme poderia
correlacionar-se com a divisão filogenética mas
não com o serótipo, tendo um deles constata-
do que as estirpes pertencentes à linhagem I
são significativamente melhores formadoras
de biofilme do que as estirpes da linhagem II,
sugerindo assim uma possível relação entre a
formação de biofilme e a divisão filogenética
mais estreitamente relacionada com os surtos

1 de origem alimentar. Contudo, o outro grupo
2 observou uma maior formação de biofilme por
3 parte de estirpes pertencentes à linhagem II
4 (serótipos 1/2a e 1/2c), as quais normalmente
5 não estão relacionadas com os surtos alimentares.
6 Estes resultados contraditórios poderão
7 dever-se a diferenças na metodologia, tamanho
8 da amostra e estirpes específicas usadas pelos
9 respetivos autores. Por outro lado, a relação
10 entre a formação de biofilme e a virulência de
11 *L. monocytogenes* permanece incerta.

12 Alguns estudos mostraram que para iniciar
13 o processo de adesão, esta bactéria serve-se
14 de flagelos, fímbrias e proteínas de membrana.
15 Os flagelos existentes na superfície das células
16 são um apêndice dinâmico que fornece mobilidade
17 celular e cuja presença está envolvida
18 no aumento da carga eletronegativa da *Listeria*.
19 Desta forma, a importância dos flagelos é levar
20 as bactérias para locais onde a adesão é poten-
21 ciada, em vez de atuarem como adsorventes
22 ou adesivos. Recentemente, caracterizaram-se
23 mutantes sem flagelos e mutantes com flagelos
24 paralisados, demonstrando-se que a mobilidade
25 flagelar é fundamental para a formação de
26 biofilmes de *L. monocytogenes*.

27 Fatores ambientais, incluindo pH, tempera-
28 tura, composição de nutrientes e características
29 populacionais das bactérias, desempenham um
30 papel importante na alteração fenotípica a quan-
31 do da passagem das células planctónicas para
32 a forma séssil. Por exemplo, foi demonstrado
33 que a adesão máxima ao aço inoxidável a 30 °C
34 ocorreu a pH 7 para *L. monocytogenes* e pH 8 - 9
35 para *Y. enterocolitica*. Adicionalmente, foi sugere-
36 rido que baixos valores de fosfatos estimulam
37 inicialmente a formação de biofilmes de *Listeria*.

38 No complexo processo de formação de
39 biofilme de *L. monocytogenes*, as expressões de
40 genes são diferentes daquelas encontradas em
41 células planctónicas. Numa análise proteómica
42 em biofilmes desta bactéria verificou-se a sobre-
43 regulação da síntese de 22 proteínas, enquanto

a síntese de outras 9 proteínas foi sub-regulada.
Curiosamente, a expressão da proteína flagelina
(FlaA) foi suprimida nos biofilmes, o que indica
que esta proteína é sintetizada na adesão inicial
e inibida durante o desenvolvimento do biofil-
me. Por outro lado, os níveis das duas enzimas
essenciais para o metabolismo do carbono,
piruvato desidrogenase (PdhD) e 6-fosfofructo-
cinase, aumentaram nas células dos biofilmes,
demonstrando que o metabolismo central de
L. monocytogenes é afetado pelo desenvolvi-
mento do biofilme. O agr (um gene regulador
acessório) foi também alvo de estudos recentes
sobre a formação de biofilme de *L. monocytoge-
nes* e *S. aureus*. O sistema agr pode controlar a
expressão de vários fatores de virulência e tem
sido proposto como possível candidato para a
formação de biofilme. Foi também descrito o
operão agrBDCA em *L. monocytogenes*, tendo-
se verificado que a deleção *in frame* dos genes
agrA e *agrD* resulta em alterações na adesão e na
formação de biofilme em superfícies abióticas.
Estas observações sugerem que o sistema agr
está envolvido nas primeiras fases da formação
de biofilme. Num estudo em que se investigou
a capacidade de *L. monocytogenes* selvagem e
seus mutantes isogénicos para os genes *cwhA*,
prfA, *agrA*, *flaA*, *degU*, *ami* e *sigB*, de aderir e for-
mar biofilmes em superfícies abióticas verificou-
se que a inativação de dois componentes do
sistema *degU* aboliu completamente a formação
de biofilmes, enquanto mutações nos genes
flaA, *agrA* e *ami* causaram diminuição da adesão
inicial de *L. monocytogenes*. Os mutantes para o
gene regulador de virulência *prfA* e fatores sigma
alternativo (*sigB*) não tiveram a capacidade de
formação de biofilmes afetada.

SALMONELLA ENTERICA ENTERITIDIS

Durante as últimas três décadas, *Salmonella
enterica* Enteritidis tem emergido como um
dos mais significativos patogénicos de origem

1 alimentar. É importante referir que a maioria
 2 das estirpes deste organismo consegue crescer
 3 em superfícies e interfaces e formar biofilmes
 4 constituídos por exopolissacarídeos, ou material
 5 exopolimérico, auto-excretados, inclusivamente
 6 nos ambientes de processamento alimentar e
 7 superfícies de contato com os alimentos. Células
 8 de *S. Enteritidis* têm-se mostrado capazes de
 9 formar biofilme em materiais de natureza distinta
 10 e sob diferentes condições de crescimento, e vá-
 11 rios estudos mostraram diferenças significativas
 12 entre serovares no que respeita à formação de
 13 biofilme, o que indica que a capacidade para
 14 formar biofilme é importante para a persistência
 15 das bactérias nos ambientes de processamento
 16 alimentar.

17 Foi descoberto que em meio de cultura rico
 18 e temperatura ambiente (28 °C) esta bactéria
 19 produz uma película cuja matriz é maioritaria-
 20 mente composta por curli, ou fímbrias agre-
 21 gativas, e celulose, sendo atualmente aceite
 22 que finas fímbrias agregativas (Tafi, do inglês
 23 Thin Aggregative Fimbriae) e celulose são dois
 24 importantes componentes da matriz dos bio-
 25 filmes de *Salmonella*. De fato, as células de *S.*
 26 *Enteritidis* possuem um apêndice na superfície
 27 celular (fímbrias SEF-17) que facilita a adesão a
 28 superfícies inanimadas e que fornece resistência
 29 às células contra forças mecânicas. As Tafi são
 30 fibras amiloides e estão envolvidas na adesão a
 31 superfícies, agregação celular, persistência am-
 32 biental e desenvolvimento de biofilme. Por seu
 33 lado, o segundo componente da matriz extrace-
 34 lular dos biofilmes de *Salmonella* - a celulose - é
 35 biossintetizado pelos genes *bcsA*, *bcsB*, *bcsZ* e
 36 *bcsC* (sendo que “bcs” se refere a Bacterial Cellu-
 37 lose Synthesis). Alguns estudos recentes sobre o
 38 processo de formação de biofilme revelaram que
 39 *Salmonella* e *E. coli*, assim como muitas outras es-
 40 pécies da família *Enterobacteriaceae*, produzem
 41 celulose como componente fundamental da
 42 matriz extracelular bacteriana e cuja formação
 43 é essencial para a sobrevivência das bactérias no

meio ambiente. A síntese de ambos os compo-
 nentes (Tafi e celulose) são co-regulados por um
 sistema regulatório complexo. A co-expressão
 de finas fímbrias agregativas e celulose leva à
 formação de uma rede altamente hidrofóbica
 com células muito compactadas alinhadas em
 paralelo numa matriz rígida.

Ao contrário do que acontece com outras
 bactérias Gram-negativas, nas quais se demons-
 trou que vários fatores relacionados com as
 superfícies ou com a adesão intercelular estão
 envolvidos na formação de biofilme, acreditava-
 se, até há algum tempo atrás, que apenas as Tafi
 e a produção de celulose estivessem envolvidas
 no processo de formação de biofilme de *S.*
enterica. Contudo, estudos posteriores demons-
 traram que uma grande proteína associada à
 parede celular – BapA -, a qual é secretada e
 cuja sequência tem homologia com a proteína
 Bap (do inglês Biofilm-Associated Protein) de *S.*
aureus, é também necessária para a formação
 de biofilme e colonização do hospedeiro. Foi
 ainda demonstrado que a expressão do gene
bapA está coordenada com a expressão de Tafi e
 celulose através da ação da proteína AgfD, tendo
 a disrupção de algum dos dois operões respon-
 sáveis pela biossíntese da celulose – *bcsABZC* e
bcsEFG – prejudicado a formação da película e
 aumentado significativamente a suscetibilidade
 de *S. Enteritidis* aos desinfetantes.

18.5 > Adesão e formação de biofilmes de *Salmonella* e *Listeria* em aço inoxidável

A adesão e formação de biofilmes bacterianos em superfícies de contato com alimentos têm sérias implicações na higiene, uma vez que células aderidas e em biofilme têm uma resistência acrescida contra fatores de *stress* comumente usados na descontaminação das ditas

1 superfícies. São numerosos os estudos sobre o
2 comportamento de células de *L. monocytogenes*
3 e de *S. enterica*, alguns dos quais mostraram
4 que ambas as bactérias são capazes de aderir a
5 diferentes materiais de contato com alimentos,
6 como por exemplo metais, plásticos, vidros e
7 madeiras. Como já foi referido anteriormente,
8 entre as várias superfícies existentes, o aço
9 inoxidável tem sido o material mais utilizado
10 para construção de superfícies de trabalho e
11 bancas de cozinha devido à sua facilidade de
12 fabrico, força mecânica, resistência à corrosão
13 e durabilidade. Neste contexto, e considerando
14 a elevada importância destas espécies bacteri-
15 rianas no âmbito da contaminação alimentar,
16 serão aqui apresentados resultados de estudos
17 sobre a capacidade de adesão e formação de
18 biofilme de *L. monocytogenes* e *S. enterica* no
19 aço oxidável.

21 **HIDROFOBICIDADE E RUGOSIDADE** 22 **DO AÇO INOXIDÁVEL**

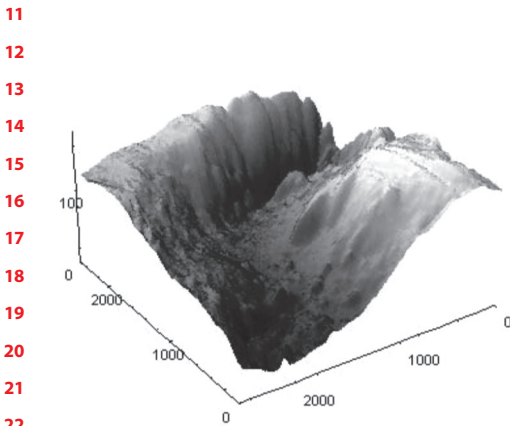
23 A adesão de células a superfícies é a etapa
24 inicial e determinante na formação de um
25 biofilme. Trata-se de um fenómeno que ocorre
26 naturalmente em meio aquoso e que depende
27 de vários fatores, entre os quais se encontram
28 as propriedades superficiais (carga superficial
29 e hidrofobicidade) e a morfologia (rugosidade
30 e porosidade) da superfície dos materiais. Duas
31 dessas propriedades – a hidrofobicidade e a
32 rugosidade - foram avaliadas em relação ao
33 aço inoxidável 304. A hidrofobicidade de uma
34 superfície traduz a sua afinidade/repulsão em
35 relação à água. Tem-se observado que em
36 solução aquosa a adesão entre superfícies
37 é favorecida se ambas são hidrofóbicas e
38 especialmente quando o filme de água que
39 separa essas superfícies é removido, processo
40 facilitado pela hidrofobicidade das superfícies
41 que interagem. Por outro lado, a rugosidade
42 está relacionada com a topografia do material
43 podendo aumentar/reduzir a área superficial

de contato e potenciar/restringir a existência
de locais protegidos favoráveis à colonização
microbiana. É possível determinar-se a hidrofo-
bicidade de uma superfícies através da medição
do ângulo de contato com a água, enquanto a
rugosidade e a topografia podem ser analisadas
através de microscopia de força atômica (AFM,
do inglês Atomic Force Microscopy).

Os ângulos de contato com a água podem
ser usados como indicadores qualitativos da
hidrofobicidade quer de células quer de super-
fícies (ver Capítulos 26 e 29). De acordo com o
critério de Vogler, superfícies hidrofóbicas (com
baixa afinidade pela água) exibem ângulos de
contato com a água superiores a 65°, enquanto
valores inferiores a este indicam que o mate-
rial tem características hidrofílicas (tem alta
afinidade com a água). Resultados da medição
dos ângulos de contato sobre os cupões de
aço inoxidável 304 mostram que este material
apresenta um valor médio de $90,4 \pm 2,9^\circ$, o que
permite classificá-lo como sendo hidrofóbico.
Assim, a superfície em questão revela-se de uma
forma geral propensa à colonização bacteriana.

Tal como acima mencionado, um outro fator
que pode influenciar a adesão e subsequente
desenvolvimento de biofilme é a rugosidade
das superfícies. De fato, num estudo em que foi
investigada a adesão bacteriana a três superfícies
de aço inoxidável com diferentes tipos de acaba-
mento (jacto de areia, areia e eletropolimento)
verificou-se que o aço inoxidável eletropolido era
o material que não só apresentava a superfície
menos rugosa mas também o que apresentou
menor número de células aderidas. Medições
quantitativas da rugosidade e da topografia de
superfícies podem ser realizadas por meio da
técnica de microscopia de força atômica, já que
este é um dos mais avançados instrumentos
para imagem, medição e manuseamento à
nanoescala, permitindo caracterizar com muita
precisão a topografia de superfícies e obter o
valor da rugosidade média (R_a - média das alturas

1 dos picos e profundidades dos vales). Em relação
 2 ao aço inoxidável 304, este material apresenta
 3 um valor médio de $30,9 \pm 4,4$ nm de rugosidade,
 4 tendo as imagens topográficas revelado uma su-
 5 perfcie com sulcos e fendas pronunciadas mas
 6 distribuídos segundo um padrão regular (figura
 7 18.1). Tal como sucedeu em relação à hidrofobi-
 8 cidade, estes dados permitem caracterizar este
 9 material como sendo (pelo menos teoricamente)
 10 propenso à colonização microbiana.

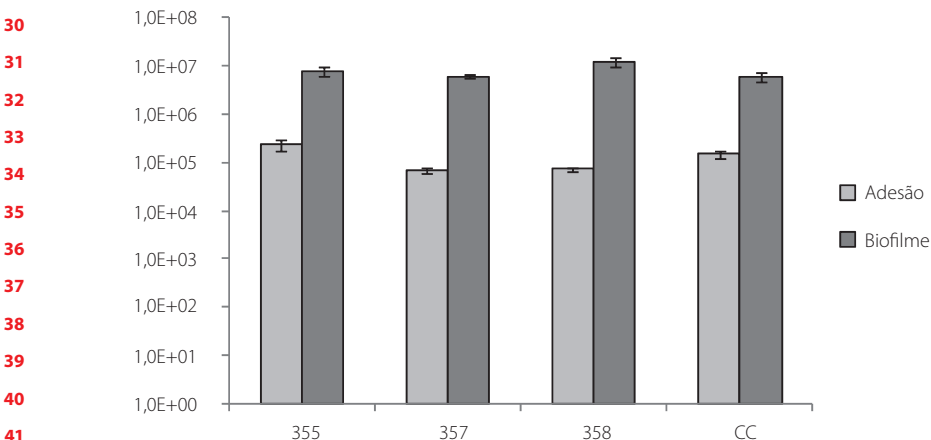


23 **Figura 15.1** > Imagem tridimensional da
 24 topografia da superfície do aço inoxidável
 25 304.

ADESÃO E FORMAÇÃO DE BIOFILME DE SALMONELLA ENTERITIDIS

A colonização bacteriana de superfícies de aço inoxidável tem sido largamente estudada. No que respeita à adesão e formação de biofilme de *S. Enteritidis* sobre cupões de aço inoxidável 304 sabe-se que diferentes estirpes desta espécie bacteriana são capazes de aderir e proliferar no material em questão (figura 18.2), confirmando assim o pressuposto feito com base na caracterização da superfície deste material.

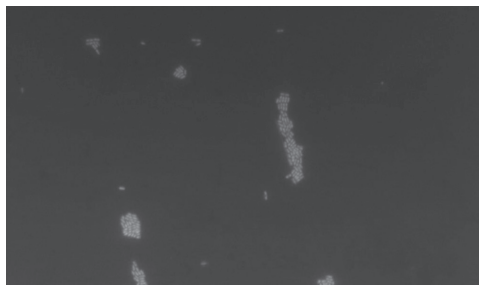
Este tipo de estudos permite determinar até que ponto uma superfície de contato com alimentos é passível de ser colonizada por agentes patogénicos e servir de base à formação de biofilmes. Ao comprovar-se a capacidade dos patogénicos em aderir e proliferar nesses materiais reforça-se a necessidade de cuidados redobrados em termos de limpeza e desinfeção dos mesmos a fim de minimizar a ocorrência de fenómenos altamente indesejáveis, como são a contaminação dos produtos alimentares (por via direta ou por contaminação cruzada) e os surtos de origem alimentar que tantas vezes assolam a saúde pública.



42 **Figura 18.2** > Adesão e formação de biofilme por parte de quatro estirpes de *S. Enteritidis* em
 43 cupões de aço inoxidável 304.

1 ADESÃO E FORMAÇÃO DE BIOFILME 2 DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*

3 Há vários trabalhos sobre a persistência de *L.*
4 *monocytogenes* em ambiente e equipamentos
5 de processamento de alimentos. A figura 18.3
6 ilustra a adesão de *L. monocytogenes* a uma
7 superfície de aço inoxidável.



8
9
10
11
12
13
14
15
16
17 **Figura 18.3.** Microfotografia obtida em
18 microscopia de epifluorescência mostrando
19 adesão de *L. monocytogenes* ATCC 19115
20 a lâmina de aço inoxidável (ASI 304).
21 Amplificação: 100 x (autoria: Fernanda
22 Barbosa dos Reis).

23
24 Num estudo sobre o efeito de nisina e de
25 duas linhagens de *Enterococcus faecium* (pro-
26 dutora e não produtora de bacteriocina, bac+ e
27 bac-) sobre a formação de biofilmes em lâminas
28 de aço inoxidável por *L. monocytogenes* cultivada
29 em meio BHI (do inglês Brain Heart Infusion), os
30 resultados obtidos na quantificação das popu-
31 lações bacterianas aderidas e as respectivas ima-
32 gens de microscopia eletrônica de varrimento
33 demonstraram que *E. faecium* bac+ foi mais
34 eficiente em reduzir a formação de biofilmes
35 por *L. monocytogenes*, em comparação com a
36 linhagem bac-. A bacteriocina nisina também
37 reduziu a formação de biofilmes (9h de incuba-
38 ção), mas verificou-se crescimento novamente
39 após 24 e 48 horas.

40 Quando se avaliou a capacidade de *L. mo-*
41 *nocytogenes* aderir ao aço inoxidável na presença
42 da cultura produtora de bacteriocina *Lactoba-*
43 *cillus sakei* 1 e de sobrenadante livre de células

desta cultura contendo a bacteriocina (CFSN-1)
foi observado que co-cultura com *L. sakei* 1
diminuiu o número de células de *L. monocyto-*
genes aderidas às lâminas de aço durante todo
o período de incubação (48h) e que CFNS-S1
causou inibição do patogênico em 24h. No en-
tanto, após 48h houve crescimento novamente
de *L. monocytogenes*. *L. sakei* ATCC 15521 não
produtor de bacteriocina, ou seu sobrenadante,
utilizados como controlos não foram capazes de
inibir o patogênico. Esses resultados indicam que
bacteriocinas podem ser úteis como estratégias
de controlo de patogênicos, especialmente para
inibir estágios iniciais de adesão bacteriana.

Numa investigação sobre a capacidade
de *Leuconostoc mesenteroides* (produtor e não
produtor de bacteriocina (bac+ e bac-, respectiva-
mente)) em inibir a formação de biofilmes por *L.*
monocytogenes em cupões de aço inoxidável, na
presença ou não de sacarose, foi observado que
Leuconostoc mesenteroides bac+ em co-cultura
com *L. monocytogenes* foi eficaz na inibição da
adesão inicial (até 3h), mas após 24h foi forma-
do biofilme em todas as condições testadas.
Constatou-se ainda que, quando foi realizada co-
cultura com *L. mesenteroides* bac+ em BHI com
sacarose, as células de *L. monocytogenes* obser-
vadas sob microscopia eletrônica de varrimento
apresentavam formato alongado. Estas células
alongadas podem apresentar maior capacidade
de adaptação ao stress e podem dividir-se em
células simples e multiplicar-se rapidamente
em condições favoráveis, representando uma
preocupação para a inocuidade de alimentos.

A avaliação do uso de óleos essenciais com-
binados ou sozinhos de *Cymbopogon citratus* e
Cymbopogon nardus, permitiu concluir que esses
antimicrobianos naturais podem ser úteis na
desinfecção de superfícies de aço inoxidável em
indústrias contaminadas por *L. monocytogenes*.
Outra alternativa testada recentemente para
o controlo da formação de biofilmes é o uso
de biosurfatantes, que são moléculas ativas na

1 superfície microbiana sintetizadas por micror-
2 ganismos. Os surfatantes de origem microbiana
3 mais conhecidos são os ramnolípidios de *P. ae-*
4 *ruginosa*, surfactina de *Bacillus subtilis*, emulsana
5 de *Acinetobacter calcoaceticus* e soforolípidios
6 de *Candida bombicola*. Testes sobre a ação dos
7 biosurfactantes surfactina e ramnolípídeo em lâ-
8 minas de polipropileno e de aço inoxidável sobre
9 *L. monocytogenes*, *Cronobacter spp.* e *Salmonella*
10 *Enteritidis* revelaram que a surfactina inibiu sig-
11 nificativamente a adesão de *L. monocytogenes*
12 e de *Cronobacter spp.* em ambas as superfícies
13 testadas. Entretanto, verificou-se que a redução
14 da adesão de *S. Enteritidis* foi somente na super-
15 fície de polipropileno. No mesmo estudo, foi
16 observado que o biosurfatante ramnolípídeo
17 não foi capaz de reduzir significativamente o
18 número de células aderidas dos patogênicos
19 testados em ambas as superfícies sólidas.

20

21

22 18.5 > Conclusões

23

24 A colonização das superfícies de processamento
25 de alimentos, e conseqüente formação de bio-
26 filmes, pode ocasionar diversos problemas na
27 indústria alimentar, tanto de ordem econômica
28 como de saúde pública. Para se evitar essa ade-
29 são de microrganismos patogênicos e formação
30 de biofilmes nas diversas superfícies, têm que ser
31 tomadas várias medidas, tais como: um projeto
32 adequado dos equipamentos, a implementação

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

de técnicas mais efetivas de monitorização de biofilmes, a inspeção visual constante da acumulação de biofilme, o desenvolvimento de novos desinfetantes e de protocolos de desinfecção mais eficientes, o desenvolvimento de superfícies com uma maior capacidade antimicrobiana através da modificação das suas propriedades superficiais como a hidrofobicidade e/ou a rugosidade e a incorporação de produtos antimicrobianos nas próprias superfícies, como é o caso dos silestone (materiais constituídos por quartzo com um biocida – Microban – incorporado). O uso de ferramentas como a Avaliação de Risco Microbiológico (MRA, do inglês Microbiological Risk Assessment) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo (HACCP, do inglês Hazard Analysis and Critical Control Point) e a implementação de Boas Práticas de Fabricação (GMP do inglês Good Manufacturing Practice -) em todas as indústrias alimentares é crucial. A utilização de métodos de avaliação da eficiência de procedimentos de limpeza e sanitização na indústria de alimentos como o método de CIP (do inglês Clean In Place) - em que é realizada a limpeza de equipamentos sem que sejam desmontados – combinado com escovação mecânica e aplicação de agentes químicos, por ex. detergentes e enzimas, reduz tempo e custo de operação na indústria de alimentos, tem também que ser universal. Espera-se, deste modo, que a segurança do consumidor possa ser uma realidade.

1 NO FINAL DA LEITURA DESTE CAPÍTULO, O LEITOR DEVE:

- 2 > Identificar os principais patogênicos alimentares;
- 3 > Reconhecer o impacto negativo dos biofilmes na indústria alimentar;
- 4 > Identificar as principais indústrias alimentares afetadas por biofilmes;
- 5 > Identificar diferentes fatores envolvidos na formação de biofilmes de *Listeria* e
- 6 *Salmonella*;
- 7 > Reconhecer a importância das principais propriedades superficiais na adesão e
- 8 formação de biofilmes;
- 9 > Identificar as principais medidas de prevenção de contaminação na indústria
- 10 alimentar.
- 11

14 LEITURA RECOMENDADA

15 Alves, V.F., De Martinis, E.C.P., Destro, M.T., Vogel, B.F. and Gram, L. (2005), *Journal of Food Protection*

16 68:2068-2077.

17 Bacon, R. T. and Sofos, J. N., in: R.H. Schmit and G.E. Rodrick (eds), edited by John Wiley & Sons, New

18 Jersey, 2003, pp. 157-195.

19 FDA. Food and Drug Administration. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins

20 Handbook. The "Bad Bug Book". 2011. Disponível em: [http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/](http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm)

21 [FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.](http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm)

22 [htm](http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm)

23 <http://www.cdc.gov/media/pressrel/2010/r101215.html>

24 Minei, C.C., Gomes, B. C., Ratti, R.P., D'Angelis, C.E.M. and De Martinis, E. C. P. (2008), *Journal of Food*

25 *Protection* 71:634–638.

26 Ratti, R.P., Gomes, B. C., Martinez, R. C.R., Souza, V.M. and De Martinis, E.C.P. (2010), *Ciência e Tecnologia*

27 *de Alimentos* 30:1011-1016.

28 Rodrigues, D., Teixeira, P., Oliveira, R. and Azeredo, J. (2011), *Journal of Food Protection* 74: 32-37.

29 Teixeira, P., Lopes, Z., Azeredo, J., Oliveira, R. and Vieira, M. J. (2005), *Food Microbiology* 22:247-251.

30 WHO. World Health Organization. Foodborne Disease Surveillance. 2011. Disponível em: [http://www.](http://www.who.int/foodborne_disease/burden/en/index.html)

31 [who.int/foodborne_disease/burden/en/index.html](http://www.who.int/foodborne_disease/burden/en/index.html)

32 Winkelströter, L. K., Gomes, B.C., Thomaz, M.R.S., Souza, V.M. and De Martinis, E.C.P. *Food Control*,

33 doi:10.1016/j.foodcont.2011.02.021 (in press).

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34
- 35
- 36
- 37
- 38
- 39
- 40
- 41
- 42
- 43