

Formação de biofilme e segurança dos alimentos em serviços de alimentação

Biofilm formation and food safety in food services

Joana Veronez Scherrer¹, Letícia De Nadai Marcon²

1 Nutricionista e Especialista em Gestão de Alimentos e Alimentação Coletiva

2 Nutricionista e Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Ouro Preto. Professora substituta do curso de Nutrição da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES).

Endereço para correspondência: joana_veronez@hotmail.com

Palavras-chave

Biofilmes
Higiene dos alimentos
Qualidade dos alimentos
Compostos químicos

Micro-organismos podem aderir às superfícies ocasionando a formação de biofilmes em diferentes ambientes. Na produção de alimentos o biofilme pode trazer prejuízos à saúde, devido à contaminação dos alimentos. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca de estudos que buscaram associar as técnicas de higienização de utensílios e equipamentos utilizados nos serviços de alimentação com a prevenção da formação de biofilmes. Foram selecionados artigos nas bases de dados Scielo, ScienceDirect, Lilacs e Google Acadêmico, entre os anos de 1998 e 2013. Para evitar a formação do biofilme, é necessário que as boas práticas de higienização sejam adequadamente implantadas dentro dos serviços de alimentação. A limpeza e a sanitização são aplicadas com o intuito de prevenir a adesão microbiana às superfícies, evitando que os alimentos sejam contaminados. Em áreas produtoras de alimentos a higienização pode ser feita de várias maneiras, mas a escolha do agente sanitizante depende, principalmente, do tipo de micro-organismo que se pretende eliminar e do tipo de superfície a ser sanitizada.

Keywords

Biofilms
Food hygiene
Food security
Chemical compounds

Microorganisms can be adhere to surfaces causing biofilm formation in differents environments. In food production, biofilms can bring harm to health due to food contamination. The aim of this study was to perform a literature review of studies that attempt to associate the techniques of cleaning utensils and equipment used in food services with the prevention of biofilm formation. The articles were selected by Scielo, Sciencedirect, Lilacs and Goofle Academic databases, and it was included between 1998-2013. To prevent biofilm formation is necessary that good hygiene practices are properly implemented within the food services. The Cleaning and sanitizing are applied with order to prevent microbial adhesion to surfaces avoiding contamination food. In the areas of food production cleaning it can be done in several ways, but the choice of sanitizer mainly depends on the type of microorganism that seeks to eliminate and the type of surface to be sanitized.

INTRODUÇÃO

Na visão dos consumidores, o conceito de qualidade dos alimentos corresponde à satisfação de características como sabor, aparência, cheiro, embalagem, disponibilidade e preço. No entanto, para garantir a segurança dos alimentos, é preciso que os mesmos estejam livres de micro-organismos capazes de ocasionar Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), bem como apresentar uma microbiota deteriorante reduzida¹.

Uma grande variedade de micro-organismos possui a capacidade de aderir e se aglomerar às superfícies dos equipamentos, resultando na formação de biofilmes. Após a formação do biofilme, as bactérias continuam se

multiplicando, constituindo desta forma, uma fonte potencial de contaminação, principalmente quando se trata da adesão de bactérias patogênicas. Os biofilmes apresentam uma maior resistência aos sanitizantes e podem levar os equipamentos à corrosão, provocando um impacto negativo na qualidade do produto final².

As Boas Práticas de Manipulação são procedimentos que devem ser empregados nos serviços de alimentação, a fim de garantir a segurança dos alimentos. A RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004, adotada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foi criada com este intuito, para que manipuladores e responsáveis técnicos sigam suas normas de qualidade³.

Para uma higienização adequada das superfícies, é necessário que ocorram, inicialmente, na limpeza, a associação de métodos manuais e o uso de detergentes^{4,5}. Este procedimento inicial permitirá uma redução da carga microbiana, aumentando a eficiência do agente sanitizante utilizado após a limpeza. A higienização adequada dos equipamentos e utensílios pode prevenir a formação de biofilmes, os quais são altamente contaminantes para os alimentos que possam entrar em contato com alguma superfície contaminada durante seu processamento⁶.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca de estudos que buscaram associar as técnicas de higienização de utensílios e equipamentos utilizados nos serviços de alimentação com a prevenção da formação de biofilmes.

MÉTODO

Com o objetivo de buscar uma associação entre as técnicas de higienização de utensílios e equipamentos utilizados nos serviços de alimentação com a prevenção da formação de biofilmes, realizou-se uma revisão de literatura com a busca de documentos, artigos e livros que abordassem os temas citados, em bases de dados eletrônicas (SciELO, ScienceDirect, Lilacs e Google Acadêmico) e sites oficiais de órgãos públicos e internacionais, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e da Sociedade Americana de Microbiologia.

Foram selecionados artigos originais ou de revisão publicados entre os anos de 1998 e 2013, elegendo aqueles referentes aos estudos que relacionavam a formação do biofilme com a contaminação dos alimentos durante seu processamento, bem como os métodos para prevenção e eliminação do biofilme.

Interessaram os artigos produzidos em português e também em inglês. Os descritores utilizados em português foram: biofilmes, higiene dos alimentos, qualidade dos alimentos, compostos químicos e seus correspondentes em inglês.

RESULTADOS

O SciELO retornou 708 artigos, sendo selecionados cinco, o ScienceDirect retornou 32.427 artigos, dos quais foram incluídos oito, o Lilacs retornou 750 artigos, sendo utilizados seis; e o Google Acadêmico retornou 13 mil resultados, mas interessaram apenas 22 estudos. Nove referências foram retiradas de livros e sites de órgãos públicos e internacionais.

Ao final, cinquenta artigos foram selecionados cumprindo os critérios de inclusão. Os assuntos observados

nos estudos selecionados foram: as boas práticas nos serviços de alimentação, tipos de testes realizados, tipos de micro-organismos avaliados, tipos de superfícies estudadas e os tipos de sanitizantes avaliados. Foram excluídos os trabalhos que não relacionaram a formação de biofilme em equipamentos e utensílios utilizados em serviços de alimentação.

Em relação ao ano de publicação, 13 (26%) foram publicados entre 1998 e 2001, 18 (36%) entre 2002 e 2005, 12 (24%) entre 2006 e 2009 e 7 (14%) entre 2010 e 2013.

DISCUSSÃO

Caracterização e desenvolvimento do biofilme

Os micro-organismos, ao entrarem em contato com uma superfície, são capazes de se desenvolver como uma estrutura complexa por meio de interações célula-célula⁷.

Biofilme pode ser definido como uma “capa” de micro-organismos viáveis ou não, ancorados em uma determinada superfície através de substâncias poliméricas que lhes conferem capacidade de adesão⁸. Seu desenvolvimento pode ser afetado por fatores como: força específica da bactéria^{9,10}, propriedades materiais da superfície, pH, quantidade de nutrientes e temperatura¹¹. Superfícies mal higienizadas podem prover o contato inicial necessário para a adesão microbiana devido à presença de um substrato¹².

A formação do biofilme compreende cinco etapas: adesão inicial, adesão irreversível, desenvolvimento da arquitetura do biofilme, maturação e dispersão.

Na adesão inicial, a capacidade de adesão das células sofrerá influência das propriedades físico-químicas da superfície da célula bacteriana¹³. As células que irão iniciar a formação do biofilme possuem pequena quantidade de substância polimérica extracelular (SPE)¹⁴. Nesta fase a adesão ainda pode ser revertida, uma vez que os micro-organismos ainda não sofreram as alterações que desencadeiam a formação do biofilme, podendo estas células retornar ao seu estilo de vida¹⁵.

Em geral, nenhuma superfície está livre do desenvolvimento de biofilmes, como por exemplo, plástico, vidro, metal, madeira e produtos alimentícios. A textura da superfície (áspera ou lisa)¹¹, a carga da superfície¹⁶, a hidrofobicidade¹¹, o pH, temperatura¹⁷ e a composição nutricional da solução são propriedades que determinam a aderência dos micro-organismos à superfície¹¹.

Após a ligação irreversível, é preciso utilizar algum processo para a remoção do biofilme, tais como: detergentes, surfactantes ou desinfetantes¹⁸. O calor também pode ser utilizado para facilitar esse processo¹⁸⁻²⁰.

As microcolônias são formadas a partir do acúmulo e do crescimento dos micro-organismos⁸. A formação de SPE contribui para o fortalecimento da ligação entre a bactéria e o substrato e protege a colônia de qualquer estresse do ambiente¹¹, proporcionando o desenvolvimento da arquitetura do biofilme.

Na etapa de maturação do biofilme pode ocorrer a formação de uma estrutura plana ou em formato de cogumelo, o que irá depender da fonte de nutrientes disponíveis⁸. Em dez dias ou mais a estrutura atinge a maturidade¹⁵.

A fase de dispersão é a última do ciclo de formação do biofilme²¹. As possíveis causas do destacamento do biofilme são: perturbações do ambiente externo, processos internos do biofilme, tais como degradação enzimática endógena ou liberação de SPE^{22,23}. Sauer et al. (2002) afirmam que o destacamento é semelhante a um processo ativo que permite a colonização de novos nichos²¹. Outro motivo do destacamento das bactérias seria a escassez de nutrientes do ambiente²⁴.

Consequências do biofilme

Existe uma grande variedade de micro-organismos patogênicos presentes nos alimentos crus. Carnes cruas de bovinos e aves apresentam-se frequentemente contaminadas por *clostridium perfringens*, *staphylococcus aureus* e *salmonella sp.* Peixes, moluscos e crustáceos podem ser contaminados com *vibrioparahaemolyticus*; frutas, verduras e legumes crus apresentam altos índices de contaminação por enteroparasitas⁶.

Estudos realizados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam as toxi-infecções alimentares como as doenças de origem alimentar mais comuns, sendo 60% dos casos decorrentes de técnicas inadequadas de manipulação, processamento e contaminação dos alimentos fornecidos em restaurantes²⁵.

As superfícies comumente utilizadas no processamento de alimentos, tais como aço inoxidável, polietileno, polipropileno, policarbonato, aço-carbono, madeira, teflon e vidro permitem o crescimento microbiano, podendo originar processos de adesão bacteriana e formação de biofilmes. A presença desses processos nas superfícies de equipamentos e utensílios para processamento de alimentos ocorre em vários níveis de intensidade. A liberação desses micro-organismos poderá trazer consequências indesejáveis à qualidade do alimento produzido, como alteração sensorial e veiculação de patógenos²⁶.

A contaminação dos alimentos ocorre mediante o contato com as superfícies, equipamentos e utensílios higienizados inadequadamente, uma vez que os micro-

organismos patogênicos podem estar presentes em partículas de alimentos ou em água²⁷.

Pinheiro et al. (2010) coletaram amostras da superfície (frente e verso) de dez tábuas de corte de plástico utilizadas nos Laboratórios de Técnica Dietética, Tecnologia de Alimentos e Gastronomia e de Lanchonetes de uma instituição de ensino superior. O método utilizado para a coleta foi o *swab*. Após análise microbiológica, verificaram a presença de mesófilos aeróbios, bolores e leveduras em 90% das tábuas, indicando que a higienização destes utensílios não foi adequada¹.

Boas práticas nos serviços de alimentação

As Boas Práticas são procedimentos que devem ser realizados pelos serviços de alimentação, a fim de garantir a conformidade dos alimentos comercializados³.

A RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004, adotada pela ANVISA, tem como objetivo estabelecer procedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação a fim de garantir as condições higiênicossanitárias dos alimentos preparados³.

As áreas de preparação de alimentos devem ser higienizadas quantas vezes forem necessárias e imediatamente após o término do trabalho. Os equipamentos, móveis e utensílios devem ser mantidos em adequado estado de conservação, bem como resistentes à corrosão e a repetidas operações de limpeza e desinfecção. As superfícies dos equipamentos, móveis e utensílios utilizados na preparação, embalagem, armazenamento, transporte, distribuição e exposição à venda dos alimentos devem ser lisas, impermeáveis, laváveis e estar isentas de rugosidades, frestas e outras imperfeições que possam comprometer a higienização dos mesmos e ser fontes de contaminação dos alimentos³.

De acordo com a Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013, as etapas obrigatórias do procedimento de higienização são: remoção de sujidades; lavagem com água e sabão ou detergente; enxágue; desinfecção química seguida de enxágue final, ou desinfecção física pelo emprego de vapor. A higienização dos equipamentos e utensílios deve ocorrer, preferencialmente, em área própria. Os procedimentos e a periodicidade da higienização devem ser estabelecidos em Procedimentos Operacionais Padronizados (POP)²⁸.

Se o método de higienização for químico, pelo emprego de produtos de limpeza e desinfecção, estes devem ser registrados na ANVISA. Devem ser descritos o método, a frequência de realização, os ingredientes ativos e a concentração das soluções de limpeza e de desinfecção usadas, e as temperaturas e os tempos de contato das soluções desinfetantes com as superfícies em higienização. Os produtos usados não devem deixar resíduos ou odores

que possam contaminar os alimentos. Se o método de desinfecção for pelo emprego de vapor, devem ser descritos o método, a frequência de realização, a temperatura e o tempo de contato do vapor com as superfícies em higienização²⁸.

A elevada contaminação dos alimentos pode ser um indicativo de qualidade higienicossanitária insatisfatória, decorrente da aplicação incorreta das boas práticas de manipulação em estabelecimentos produtores de alimentos. Nesse sentido, Pinheiro et al. (2005) avaliaram a qualidade de frutos minimamente processados em supermercados (goiaba vermelha, manga, melão japonês, mamão formosa e abacaxi), totalizando cem amostras. Os frutos estavam acondicionados em bandejas de poliestireno expandido, envolto por filme de polietileno, e armazenados em balcões refrigerados sem termômetro ou sobre gelo. Após realizarem análise microbiológica, observaram que, das amostras, 25% estavam contaminadas com *salmonella sp* e 28% apresentavam coliformes fecais em valores superiores a $5,0 \times 10^2$ NMP.g-1. Além disso, foram encontrados bolores e leveduras, constatando-se que a contaminação dos frutos é bastante diversificada, podendo ser originada em várias etapas: durante a produção no campo, manuseio pós-colheita, transporte, armazenamento e durante o processamento²⁹.

Com relação à manipulação do alimento pós-produção, Fai et al. (2011) avaliaram a ocorrência de *Salmonella sp.* e *Listeria spp.* em presunto suíno cozido sem capa de gordura, mantido sob temperatura de refrigeração, comercializado em supermercados de Fortaleza (CE). O material estudado compreendeu 40 amostras, provenientes de oito marcas comerciais, coletadas em 26 estabelecimentos. Após análise microbiológica, foi constatado que 30% das amostras estavam contaminadas por *salmonella sp.* e 42,50%, 22,50% e 2,5% por *L. monocytogenes*, *L. innocua* e *L. welshimeri*, respectivamente. Foram observadas, ainda, falhas na aplicação das boas práticas de manipulação na área de frios dos supermercados³⁰.

Métodos para detecção do biofilme

Existem diversos métodos para detecção e monitoramento da carga microbiana das superfícies de processamento de alimentos, dentre elas estão a técnica do *swab* e o teste de ATP-Bioluminescência³⁵.

Segundo Pires et al. (2005), a técnica do *swab* tem sido muito utilizada para coleta de micro-organismos das superfícies que entram em contato com alimentos³⁶. Esta técnica permite avaliar a qualidade higiênica de superfícies, e tem como vantagem o baixo custo e a fácil utilização³⁵.

Nesse sentido, Legnani et al. (2004), ao avaliarem a qualidade microbiológica de alimentos e equipamentos de

estabelecimentos de serviços de alimentação por meio da técnica do *swab*, apesar de terem observado que 71,4% das superfícies apresentaram contagem de mesófilos aeróbios totais dentro das recomendações, consideraram 10% das amostras de equipamentos totalmente inadequadas para contato com alimentos³⁷.

Outro teste que pode ser empregado é o teste de ATP-Bioluminescência, considerado um método rápido, uma vez que seu resultado pode ser obtido em 5 a 10 minutos. Neste processo, a produção de ATP é relacionada com a quantidade de micro-organismos e resíduos alimentares presentes³⁶. O estudo de Simm et al. (2004), utilizando a técnica de ATP-Bioluminescência, constatou que a presença de substâncias orgânicas na superfície aumenta os níveis de URL (Unidades Relativas de Luz), indicando que maiores valores serão encontrados em superfícies mal higienizadas³⁸. A vantagem de se aplicar este método está na rapidez com que as ações corretivas poderão ser tomadas³⁹. No entanto, o teste de ATP-Bioluminescência não pode ser usado para determinar a contagem microbiológica, mas pode ser um método alternativo e viável para avaliar o procedimento de higienização já que indica se a superfície está ou não em condições higiênicas satisfatórias³⁶.

Contudo, ainda não existe um método rápido para a contagem de micro-organismos do biofilme para os serviços de alimentação. As técnicas convencionais não permitem a separação quantitativa das bactérias aderidas, mas são capazes de fornecer informações importantes para o controle do crescimento da microflora⁸.

Remoção de micro-organismos e controle do biofilme

A segurança dos alimentos está diretamente relacionada ao seu adequado processamento, o que promoverá um aumento da sua vida útil. O primeiro passo para que haja o controle do biofilme é a realização de uma lavagem adequada dos alimentos, visto que o uso dos sanitizantes reduz 2log da quantidade de bactérias iniciais³¹. É válido lembrar que os processos utilizados na indústria de alimentos como corte, lavagem, desidratação e embalagem são considerados fontes de contaminação cruzada, o que acarreta na contaminação ou aumento da carga microbiana dos alimentos³².

Limpar e sanitizar as superfícies que entram em contato com os alimentos são ações extremamente importantes para manter o controle microbiológico e, desta maneira, impedir a contaminação dos alimentos³³. A remoção dos resíduos deve ser realizada o mais rápido possível, a fim de se evitar a formação de biofilmes, os quais são mais difíceis de serem removidos. Logo, aconselha-se que a limpeza seja feita imediatamente após o uso do equipamento ou utensílio,

pois a adesão pode ocorrer em um intervalo de vinte minutos a duas horas³⁴.

Inicialmente, deve-se realizar uma limpeza manual das superfícies dos equipamentos e instalações, utilizando escovas, raspadores, esponjas, esguichos de alta pressão, vapor, entre outros meios, juntamente com algum detergente de média ou baixa alcalinidade, a uma temperatura de no máximo 45°C para não afetar os manipuladores^{4,5}.

O detergente deve atuar diminuindo a tensão superficial, permitindo uma maior interação da água com o resíduo, facilitando a remoção da superfície à qual está aderido⁵. A solução detergente é utilizada com o objetivo de separar as sujidades das superfícies que serão higienizadas, mantendo-as dispersas no solvente, evitando que voltem a se depositar⁶.

Após a limpeza prévia, deve-se utilizar um sanitizante, que de acordo com a Portaria CVS 5, é um produto ou agente capaz de reduzir o número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde²⁸.

Segundo Germano e Germano (2001), a sanitização é considerada a última etapa do fluxograma de higienização, tendo como objetivo principal a eliminação de microorganismos patogênicos e a redução dos deteriorantes até níveis seguros para superfícies de utensílios e equipamentos. A sanitização pode ser realizada por meio de agentes físicos (calor, na forma de água quente, ar quente, vapor e radiações) e químicos (compostos à base de iodo, cloro, quaternários de amônio, ácido peracético, peróxido de hidrogênio, clorexidina, entre outros)⁶.

Processos utilizados para prevenção e eliminação do biofilme

Em decorrência da sua maior resistência, as células de biofilme geralmente não são removidas pelo procedimento de lavagem normal, podendo ser uma fonte de contaminação para os alimentos que entram em contato com superfícies durante o processamento⁴⁰. Segundo Ancipa et al. (2011), quando a sujidade está sujeita à umidade em combinação com os resíduos de outros produtos (açúcares, gorduras), ocorre aderência à superfície (incrustação), especialmente se o processo de limpeza não foi realizado no momento certo, favorecendo sua incrustação nas superfícies dos equipamentos e das instalações⁴¹.

Um estudo de Joseph et al. (2001) sobre a formação de biofilmes de *Salmonella sp* em superfícies de equipamentos constatou que a resistência desses biofilmes varia de acordo com o tipo de superfície na qual as bactérias estão aderidas, sendo as superfícies de aço inox mais sensíveis à ação de sanitizantes do que as superfícies de plástico⁴⁰.

Existem no mercado diversos tipos de agentes químicos utilizados para higienização de superfícies, utensílios e equipamentos, dentre estes agentes destacam-se compostos clorados, detergente alcalino, detergente neutro, quaternário de amônia, iodo, ácido peracético e álcool etílico a 70%^{42,44-47,49}.

A avaliação da eficiência dos sanitizantes é bastante complexa, principalmente em razão dos inúmeros fatores que poderão afetá-la. Dessa maneira, a natureza e tipo de superfícies tratadas, a concentração e natureza dos resíduos, o tipo de microbiota contaminante da superfície, a concentração e o período de contato do sanitizante com a superfície são apenas algumas das variáveis que poderão afetar, em menor ou maior grau, a eficiência dos sanitizantes²⁶.

Silva Jr. (2006) relata os resultados obtidos das análises realizadas em cozinhas industriais em São Paulo, e recomenda os seguintes valores de referência para equipamentos e utensílios de preparação: menor ou igual a 50 UFC/cm² é satisfatório; além de ausência de coliformes fecais, *S. aureus*, *B. cereus* e *P. aeruginosa* em 50 cm² da amostra. Para utensílios de mesa, o autor recomenda uma contagem de até 100 UFC/cm², valores acima desta contagem são considerados insatisfatórios⁴³.

Estudo realizado por Pinto (2006) avaliou a eficácia de dois protocolos de higienização nas áreas de manipulação de supermercados. O primeiro protocolo utilizou detergente alcalino clorado à base de hidróxido de sódio e hipoclorito de sódio (concentração de 1000 ppm) e o segundo protocolo utilizou detergente neutro e sanitizante à base de quaternário de amônio (concentração de 400 ppm). Após a retirada, por meio de escovas, das sujidades presentes nos equipamentos, foi distribuída cada solução de limpeza com o auxílio de esponja nas superfícies testadas. A primeira solução ficou sobre a superfície por 10 minutos e a segunda solução agiu por 5 minutos; ao final de cada processo procedeu-se ao enxágue de cada solução com água potável, deixando as superfícies secarem naturalmente. Em seguida, foi realizada coleta da amostra das superfícies utilizando *swabs*. Os dois métodos demonstraram-se eficientes nas superfícies em que foram aplicados, com exceção apenas da fatiadora de frios quando aplicado o primeiro método. Acredita-se que este resultado foi devido à alta carga microbiana inicial que este equipamento apresentou. Vale destacar também que a limpeza anterior das superfícies com detergente neutro fez com que o quaternário de amônio apresentasse melhor ação sanitizante⁴².

A utilização de produtos de limpeza e de sanitização precisa estar de acordo com as determinações da legislação higienicossanitária e as especificidades apresentadas pelos fabricantes dos produtos usados. Os detergentes comerciais

atuam durante a limpeza, reduzindo o tamanho e removendo as sujidades, e na sua composição podem conter vários componentes que exercem funções específicas, como os tensoativos, substâncias alcalinas, ácidos, fosfatos e sequestrantes⁴⁴.

López-Gálvez et al. (2010) avaliaram o efeito da sanitização de alface minimamente processada utilizando dióxido de cloro (3 mg/L) ou hipoclorito de sódio (100 mg/L). Nenhum dos agentes de saneamento testados reduziu significativamente as contagens de *Escherichia coli* após sua aplicação. Estes resultados sugerem que, depois que ocorre a contaminação cruzada, medidas de saneamento subsequentes são ineficientes para inativar células de *E. coli* no tecido vegetal. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura indicaram que as células bacterianas estavam localizadas principalmente em clusters ou estômatos dos tecidos, onde podem ser protegidas, o que explica a baixa eficácia das soluções de dióxido de cloro e hipoclorito de sódio observadas neste estudo⁴⁵.

Oliveira e Silva (2000) avaliaram o efeito da desinfecção de ovos por imersão em duas soluções desinfetantes sobre a contagem bacteriana e de *salmonella enteritidis* da casca de ovos artificialmente contaminados. Foram utilizados nove ovos contaminados e cinco ovos não contaminados como controle. Os contaminados foram divididos em três grupos de três ovos cada e dois grupos foram imediatamente desinfetados. A desinfecção foi realizada por imersão dos ovos por 30 segundos na solução desinfetante aquecida a 45°C. Um dos grupos foi desinfetado em solução contendo 400ppm de compostos quaternários de amônio (obtido do produto comercial Cleanshell[®]) e o outro desinfetado em solução contendo 50,2ppm de cloro residual livre. A desinfecção da casca de ovos com solução do composto quaternário de amônia na dosagem de 400ppm foi mais eficiente do que quando se utilizaram 50,2ppm de cloro, tanto na redução de mesófilos totais como para *Salmonella enteritidis*⁴⁶.

Monteiro et al. (2001) realizaram um estudo em cozinhas industriais com o objetivo de conhecer as condições higiênicossanitárias das pessoas que trabalham diretamente na elaboração de alimentação coletiva e desenvolver um controle microbiológico sistemático, associado a um programa de higienização. Eles efetuaram duas análises bacteriológicas das mãos de vinte manipuladores de alimentos. Na primeira análise, os manipuladores não fizeram uso prévio de agente sanitizante e, na segunda análise, realizaram assepsia das mãos com solução de iodo a 1%. Utilizaram swabs para a coleta de material das mãos dos manipuladores. Os resultados das análises mostraram que o iodo em solução a 1% foi eficiente no combate a bactérias do

Grupo Coliforme, tais como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, contribuindo significativamente para a diminuição dos surtos de origem alimentar causados por alimentos manipulados inadequadamente⁴⁷.

Nesse sentido, além do iodo para uso em antissepsia das mãos, pode-se citar o álcool etílico, o desinfetante de pele mais comumente usado e em variadas concentrações (60 a 90%, mais frequentemente 70%, devido à sua ação desidratante e coaguladora de proteínas). No entanto, o álcool não tem ação sobre formas mais resistentes como os endósporos de muitas bactérias. O poder bactericida do álcool é melhorado quando o tempo de contato aumenta, seja em superfícies a serem desinfetadas ou nas mãos. A diluição correta para a concentração alcoólica de melhor efeito bactericida é a diluição de 70%⁴⁸.

Jaenisch et al. (2010) compararam a atividade antibacteriana de quatro desinfetantes: ácido peracético (ácido peracético a 2%, peróxido de hidrogênio a 6% e ácido acético a 22%), amônia quaternária (80g 100mL⁻¹), hipoclorito de sódio a 1% e a 0,1% de cloro ativo e o composto de ácidos orgânicos (ácido ascórbico 1mL, ácido cítrico 0,475mL, ácido láctico 0,475mL e água desmineralizada qsp100.000mL), frente às amostras padrão de *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus*, na presença e ausência de matéria orgânica, sob duas diferentes temperaturas (10°C e 30°C) e tempo de contato de 20 minutos. Em seus resultados, o hipoclorito de sódio a 1% e a 0,1% de cloro ativo e o ácido peracético foram os desinfetantes que apresentaram maior eficácia frente às amostras testadas. A amônia quaternária e o composto de ácidos orgânicos foram os menos eficazes. A presença da matéria orgânica reduziu a atividade antibacteriana nos desinfetantes à base de ácidos orgânicos, produtos que detêm a característica de serem biodegradáveis. Porém, na ausência desta, o ácido peracético mostrou-se o mais eficaz frente à *S. enteritidis*, atuando com eficácia independente da matéria orgânica contra *E. coli* e *S. aureus*⁴⁹.

Massautet al. (2008) coletaram amostras por meio da técnica do swab de equipamentos, utensílios e superfícies de uma unidade de alimentação e nutrição da cidade de Pelotas/RS. Estes autores, analisando os valores referentes à contagem de bactérias mesófilas aeróbias constataram que, das 30 amostras testadas, 18 (56,6%) encontravam-se fora do padrão estabelecido; dentre elas, 12 (40%) apresentaram níveis de bolores e leveduras, acima do recomendado. Considerando que os micro-organismos pesquisados podem ser removidos pelos processos convencionais de limpeza, envolvendo detergente, água corrente e sanitização com álcool a 70%, estes autores sugerem que o processo de higienização aplicado no local foi insatisfatório e que o fato

pode ser devido à inexistência de um POP a ser seguido pelos funcionários. A utilização de orientações verbais em lugar dos POP resulta na falta de padronização dos procedimentos de rotina em Unidades de Alimentação e Nutrição⁵⁰.

CONCLUSÃO

A correta higienização dos alimentos e das superfícies, antes e após o processamento dos alimentos, é procedimento indispensável para a prevenção da formação de biofilmes, os quais colocam em risco a qualidade higienicossanitária dos alimentos.

Devido à grande variedade de micro-organismos presentes nas superfícies, recomenda-se a utilização de sanitizantes de amplo espectro, os quais possuem mais de um agente em sua composição. E, para que a ação do sanitizante seja eficiente, é necessário o correto emprego das boas práticas na manipulação e processamento dos alimentos, pois a carga microbiana precisa ser reduzida ao máximo para que o agente sanitizante tenha uma alta eficiência na remoção final dos micro-organismos.

REFERÊNCIAS

- Pinheiro MB, Wada TC, Pereira CAM. Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. *RevSymbio-Logias*. 2010;5(3):115-124.
- Rosado MS. Biofilme de *Enterococcus faecium* em superfície de aço inoxidável: modelagem e controle por agentes sanitizantes, 2009 [Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
- Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação 2004. Brasília: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Available from http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/aa0bc300474575dd83f2d73fbc4c6735/RDC_N_216_DE_15_DE_SETEMBRO_DE_2004.pdf?MOD=AJPERES.
- Contreras CJ, Bromberg R, Cipolli KMVAB, Miyagusku, L. Higiene e sanitização na indústria de carne e derivados. São Paulo: Varela; 2003.
- Rêgo JC, Faro ZP. Manual de limpeza e desinfecção para unidades produtoras de refeições. São Paulo: Varela, 1999.
- Germano PML, Germano MIS. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Varela, 2001.
- Breyers JD, Ratner JP. Bioinspired implant materials befuddle bacteria. *ASM News*. 2004;70:232–237.
- Chmielewski RAN, Frank JF. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2003;(2):22-32.
- Borucki MK, Peppin JD, White D. Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol*. 2003;12(69):7336-7342.
- Chae MS, Schraft H. Comparative evaluation of adhesion and biofilm formation of different *Listeria monocytogenes* strains. *Int J Food Microbiol*. 2000;1-2(62):103-111.
- Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002;9(8):881-890.
- Oliveira LAT, Franco RM, Carvalho JCAP, Almeida FES, Gonçalves PMR. Biofilme na indústria de alimentos. *HigAlim*. 2006;20(141):33-35.
- Ferreira C, Pereira AM, Melo LF, Simões M. Advances in industrial biofilm control with micro-nanotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010;845-854.
- O'Toole GA, Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol*. 1998; 30(2):295-304.
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *AnnuRevMicrobiol*. 2002;(56):187-209.
- Abdallah FB, Chaieb K, Zmantar T, Kallel H, Bakhrouf A. Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Braz J Microbiol*. 2009;2(40):394-398.
- Nilsson RE, Ross T, Bowman JP. Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *Int J Food Microbiol*. 2011;1(150):14-24.
- Sinde E, Carballo J. Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiol*. 2000;4(17):439-447.
- Augustin M, Ali-Vehmas T, Atroshi F. Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2004;7(1):55-64.
- Maukonen J, Mättö J, Wirtanen G, Raaska L, Mattila-Sandholm T, Saarela M. Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: a review. *J IndMicrobiolBiotechnol*. 2003;30:327-356.
- Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol*. 2002;4(184):1140-1154.
- Kaplan JB, Ragunath C, Ramasubbu N, Fine DH. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous β -hexosaminidase activity. *J Bacteriol*. 2003;16(185):4693-4698.

23. Kaplan JB, Rangunath C, Velliyagounder K, Fine DH, Ramasubbu N. Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;7(48):2633-2636.
24. O'Toole GA, Kaplan HB. Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*. 2000;54:49-79.
25. Rossi CF. Condições higiênicas-sanitárias de restaurantes comerciais do tipo self-service de Belo Horizonte-MG, 2006 [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG].
26. Andrade NJ. Higiene na indústria de alimentos: Avaliação e Controle da Adesão e Formação de Biofilmes Bacterianos. São Paulo: Varela; 2008.
27. Piragine KO. Aspectos higiênicos e sanitários do preparo da merenda escolar na rede Estadual de Ensino de Curitiba, 2005 [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná-UFPR].
28. Portaria CVS 5, de 09 de abril de 2013. Regulamento técnico de boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação. São Paulo: CVS - Centro de Vigilância Sanitária; 2013. Available from http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/PORTARIA%20CVS-5_090413.pdf
29. Pinheiro NMS, Figueiredo EAT, Figueiredo RW, Maia GA, Souza PHM. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. *Ver Bras Frutic*. 2005; 1(27):153-156.
30. Fai AEC, FigueiredoEAT,VerdinSEF, Pinheiro NMS, Braga ARC, Stamford TLM. *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2011; 16(2):657-662.
31. Whipps JM, Hand P, Pink DAC, Bending GD. Chapter 7: human pathogens and the phyllosphere. *AdvApplMicrobiol*. 2008;64:183-221.
32. Suslow TV. Water disinfection: A practical approach to calculating dose values for preharvest and postharvest applications. Califórnia: University of California; 2001. Available from <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/7256.pdf>.
33. Gibson H, Taylor JH, Hall KE, Holah JT. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *J Appl Microbiol*. 1999;1(87):41-48.
34. Vialta A, Moreno I, Valle JLE. Boas práticas de fabricação, higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle na indústria de laticínios: 1- Requeijão. *Revista Indústria de Laticínios*. 2002;37:56-63.
35. Chae MS, Schraft H. Cell viability of *Listeria monocytogenes* biofilms. *Food Microbiol*. 2001;1(18):103-112.
36. Pires ACS, Araújo EA, Camilloto GP, Ribeiro MCT, Soares NFF, Andrade NJ. Condições higiênicas de fatiadores de frios avaliadas por ATP-Bioluminescência e contagem microbiana: sugestão de higienização conforme RDC 275 da ANVISA. *AlimNutr*. 2005;2(16):123-129.
37. Legnani P, Leoni E, Berveglieri M, Mirolo G, Alvaro N. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control*. 2004;3(15):205-211.
38. Simm EM, Andrade NJ, Mendonça RCS, Passos FJV, Chaves JBP. Interference of some organic substances and microorganisms adhered to stainless steel in ATP-Bioluminescence measurement. *Braz Arch Biol Technol*. 2008;3(51):587-593.
39. Verran J, Jones M. Problems of biofilm in the food and beverage industry. *Wiley*. 2000;145-73.
40. Joseph B, Otta SK, Karunasagar I. Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. *Int J Food Microbiol*. 2001;3(64):367-372.
41. ANCIPA, FORVISÃO, IDEC, FUNDACION LAVORA, SINTESI. HYGIREST- Programa de formação sobre higiene e segurança alimentar para restaurantes e estabelecimentos similares - Trabalhadores. Edição: ANCIPA - Associação Nacional de Comerciantes e Industriais de Produtos Alimentares, 2004 - 2005. Available from: http://forvisao.pt/uploads/recursos/hygiarest/manual_trabalhadores.pdf.
42. Pinto MP. Avaliação da eficácia de dois protocolos de higienização em áreas de produção de alimentos de um supermercado, 2006 [Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS].
43. Silva Jr EA. Manual de Controle Higiênico-sanitário em Serviços de Alimentação. 6ª ed. São Paulo: Varela; 2006.
44. Srebernich SM, Silva SMF, Fey C, Soares MMSR. Avaliação da ação antimicrobiana de agentes sanitizantes físicos (água quente e forno microondas), esponjas comerciais utilizadas para limpeza em cozinhas. *Hig Aliment*. 2008;22(161): 71-76.
45. López-Gálvez F, Gil MI, Truchado P, Selma MV, Allende A. Cross-contamination of fresh-cut lettuce after a short-term exposure during pre-washing cannot be controlled after subsequent washing with chlorinedioxide or sodium hypochlorite. *Food Microbiol*. 2010;2(27):199-204.
46. Oliveira DD, Silva NE. *Salmonella* em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2000;6(52):655-661.
47. Monteiro CM, Timbó MOPP, Oliveira SCA, Costa LAT. Controle higiênico-sanitário de manipuladores de alimento de cozinhas industriais do Estado do Ceará. *Hig Aliment*. 2001;15(89):90-93.
48. Borella ST. Programa alimentos seguros: procedimentos operacionais padrão para o serviço de abastecimento. 2006.15.
49. Jaenisch FRF, Kuchiishi SS, Coldebel A. Atividade antibacteriana de desinfetantes para uso na produção orgânica de aves. *Ciência Rural*. 2010;2(40):384-388.

50. Massaut KB; Decol LT; Moura, TM; Ortiz AS; Aleixo JA. Validação de procedimentos de higienização de uma unidade de alimentação e nutrição da cidade de Pelotas/RS. Rio Grande do Sul: XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E X ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 2008. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2008/cd/pages/pdf/CS/CS_00983.pdf.

Submissão: 14/09/2015

Aprovado para publicação: 06/06/2016