**BIOFILME NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E OS FATORES DE VIRULÊNCIA ENVOLVIDOS**

**Deisi Cristine DEWES[[1]](#footnote-1), Raquel PILETTI ².**

***Palavras-chave:*biofilme bacteriano; micro-organismo; superfície; adesão**

**INTRODUÇÃO**

 Os micro-organismos sobrevivem e se adaptam a diferentes condições de estresse, sendo os fatores intrínsecos, inerentes ao alimento, e os extrínsecos, relacionados ao ambiente em que o alimento se encontra, determinantes para o desenvolvimento das bactérias. Tais fatores podem ser limitantes ou satisfatórios pois, uma vez formado o biofilme, o micro-organismo se torna mais resistente a processos de higienização e limpeza aplicados nas superfícies, as quais se tornam fontes constantes de contaminação (Grandi, 2015).

 Na natureza e nos alimentos os micro-organismos aderem-se as superfícies e crescem como uma comunidade (Denyer et al., 1993, Zottola; Sasahara 1994, Kumar; Anand 1998, Stickler, 1999 *apud* Forsythe, 2013). Essa multiplicação dá origem a colônias e quando a massa celular é suficiente para agregar nutrientes, resíduos e outros micro-organismos, está formado o que se denomina biofilme (COSTERTON; MARRIE et al., 1985, ZOTTOLA, 1994).

 Alguns fatores favorecem o crescimento e a formação de biofilmes, sendo os principais as características físico-químicas do material sobre o qual estão aderidos e expressão de fatores de virulência por parte dos micro-organismos, com produção de cápsula exopolimérica, fímbrias e síntese de adesinas fímbrias e não fímbrias (FLACH et al., 2005). Com relação aos micro-organismos, são fatores que podem influenciar a adesão ao substrato, as propriedades da superfície ou interface, disponibilidade de nutrientes e diversidade da comunidade microbiana (KLAUSEN et al., 2003; COSTERTON et al., 1995 *apud* GRANDI, (2015).

 A formação de um biofilme passa por diferentes etapas de adesão e adaptação dos micro-organismos, e para a fixação ocorrer devem existir forças atrativas entre a célula e a superfície, e evidentemente essas forças devem ser mais fortes que as repulsivas (MACEDO, 2006).

 De acordo com Flach et al. (2015), a forma de organização dos organismos em biofilmes fornece proteção contra possíveis adversidades como a desidratação, a colonização por bacteriófagos, e resistência a antimicrobianos. O desprendimento da carga microbiana da superfície pode provocar contaminação do alimento com bactérias degradadoras e patogênicas indesejáveis provenientes dos biofilmes. De acordo com Forsythe (2013) a formação de biofilme conduz a sérios problemas de higiene e perdas econômicas devido a deterioração do alimento e persistência de patógenos.

 O presente trabalho teve como objetivo descrever os principais fatores responsáveis pela formação e adesão de biofilmes em superfícies da indústria de alimentos e as principais formas de controle.

**A ADESÃO E FORMAÇÃO DE BIOFILME**

 A formação do biofilme ocorre por uma série de processos sucessivos, onde a adesão inicial de bactérias planctônicas à superfície é seguida por proliferação e acúmulo de camadas de células e, finalmente, pela formação da comunidade microbiana, embebida em matriz de exopolissacarídeo produzida por si mesma (CASALINI, 2008).

 A transição da vida planctônica para a forma de um biofilme envolve uma série de etapas, as quais são susceptíveis a interações químicas, físicas e biológicas. Podem ser citadas: (1) fixação reversível das células planctônicas a superfície; (2) fixação das células de forma irreversível; (3) multiplicação celular e formação de micro colônias; (4) crescimento e maturação do biofilme; e (5) dispersão (XAVIER et al., 2005; RENNER e WEIBEL, 2011).

 A primeira etapa consiste na pré-adesão, na qual os micro-organismos planctônicos recebem o estímulo que os leva a aderir à superfície (BOARI et al, 2009). Neste estágio, os biofilmes são facilmente reversíveis, e removidos pela limpeza manual, pois ocorre a adesão do organismo a superfície através de estímulos que podem influenciar esse processo, tais como o pH, concentração de nutrientes, temperatura e na presença de auto indutores do *quórum sensing*(FORSYTHE, 2013).

 Em seguida ocorre o estágio de adesão reversível, onde há a interação célula-superfície e sua colonização inicial. O processo de adesão bem sucedido depende de alguns fatores, como o aparato celular do micro-organismo e as características da superfície da bactéria e do substrato. Esta adesão é considerada reversível, pois é possível observar o retorno de células aderidas ao seu estado planctônico (BOARI, 2008; FORSYTHE, 2002).

A etapa de adesão irreversível ocorre duas horas após a adesão inicial e se caracteriza pela presença de micro colônias, que correspondem a um amontoado de células aderidas entre si e a uma superfície. Neste estágio, ocorre o ancoramento de apêndices e as ligações célula-superfície se fortalecem. A motilidade cessa e genes envolvidos na comunicação célula-célula (*quórum sensing*) e na produção de EPS estão totalmente ativos. A principal força de ligação célula-superfície é conferida pela matriz tridimensional e insolúvel de EPS (BOARI, 2008).
 O quarto estágio é o de maturação, que garante uma maior estabilidade, e é correspondente à maturação da estrutura que já vem sendo formada. Ocorre de três a seis dias após a adesão inicial, podendo chegar a 10 dias (FORSYTHE, 2002). Com o crescimento do biofilme algumas células ou até mesmo agregados maiores tendem a se desprender e se dispersar no ambiente, ficando livres para colonizar outros nichos. Na medida em que a população microbiana aumenta, ocorre a divisão ou morte das células. Segundo Hall-Stoodley et al. (2004) esta etapa é importante para a propagação e auto renovação da comunidade.
 Conforme Forsythe (2002), o destacamento de células acontece entre 9 a 12 dias depois dos processos iniciais. As células se apresentam móveis e assemelham-se às células planctônicas, podendo contaminar o alimento ou formar um novo biofilme na linha de produção.

**BIOFILMES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

 Na indústria de alimentos os biofilmes podem se acumular em uma variedade de substratos como o aço inox, vidro, superfícies poliméricas, ferro, entre outros. Convém ressaltar que o biofilme quando submetido ao calor, pode cristalizar e formar depósitos ou crostas que são muito aderentes, protegendo novos micro-organismos e dificultando ainda mais os procedimentos de higiene (PARIZZI et al., 2004).

 Quanto aos prejuízos para a indústria e para a saúde do consumidor na indústria alimentícia, a adesão de micro-organismos à superfície de equipamentos utilizados para o processamento de alimentos resulta em graves problemas, uma vez que o biofilme microbiano tem o potencial de atuar como fonte crônica de contaminação por patógenos que pode comprometer a qualidade do alimento e representar graves riscos à saúde do consumidor. Além disso, pode ocasionar prejuízos financeiros à indústria, em virtude da diminuição da vida de prateleira dos produtos alimentícios (FLACH; KARNOPP; CORÇÃO, 2005).

 Convém ressaltar que em um biofilme as bactérias podem ser 1000 vezes mais resistentes a um antimicrobiano, quando comparadas às mesmas células planctônicas (KYAW, 2008). Neste contexto, a eficiência da desinfecção quando aplicada a uma superfície já constituída com biofilme não é a mesma quando aplicada com células planctônicas, visto que, o biofilme é muito mais resistentes e tolerante a estes tratamentos (GRANDI, 2015).

  Segundo Albuquerque et al. (2014), o processo de desagregação de biofilme deve ser visto como uma estratégia interessante quando se pretende manter a integridade de um material metálico, pois conforme  as operações de lavagem e sanitização, mesmo que frequentes, não podem garantir a eliminação completa dos biofilmes, pois sabe-se  que  muitas  das  superfícies  em  contato  com  o alimento  assim  como  as tubulações  e  equipamentos,  apresentam  cantos,  sulcos,  rugosidades,  rachaduras,  e zonas  mortas  (de  baixo  fluxo)  onde os  biofilmes  facilmente  se  desenvolvem.
 A utilização de eficientes e adequados sanificantes (físicos ou químicos) em equipamentos, pode evitar a formação de biofilmes e/ou reduzir os índices de contaminação microbiana para a manutenção de um alimento com qualidade. Entretanto, como a eliminação de biofilmes em superfícies é um processo exigente e difícil, a forma de higienização deve ser analisada como um todo, otimizando os resultados e minimizando os custos (CAIXETA, 2008).

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

 Os micro-organismos utilizam a formação de biofilmes como estratégia de prevenção e sobrevivência, visto que podem se instalar em diversas superfícies, o que dificulta o controle da indústria, pois quando se encontram na etapa de adesão irreversível, são resistentes aos produtos químicos utilizados para a limpeza e desinfecção, bem como a intervenção de força física. A higienização incorreta permite que os resíduos que permanecem nas superfícies transformam-se em fontes de contaminação, sendo o crescimento microbiano nas superfícies de alimentos um dos principais fatores de deterioração de alimentos.

 Visto que a instalação de biofilmes microbianos geram camadas isolantes e ocasionam corrosão microbiológica induzida, a aplicação incorreta dos produtos químicos podem também fortalecer a resistência dos micro-organismos. Sobretudo, os mecanismos de resistência dos biofilmes dificultam e prejudicam a vida útil de equipamentos e a qualidade dos produtos, pois quando não controlados e já instalados, geram perdas de energia e despesas econômicas, devidos as manutenções e trocas de equipamentos necessários, além da perca da qualidade do produto.

 Deste modo, para prevenir prejuízos e produzir produtos com qualidade e segurança, é essencial que a indústria de alimentos adote métodos de limpeza e sanitização e desenvolva programas de controle e higienização corretos para a remoção de biofilmes.

 **REFERÊNCIAS**

ALBUQUERQUE, A. C.; ANDRADE, C.; NEVES, B.. Biocorrosão: da integridade do biofilme à integridade do material. **Corros. Prot. Mater**., Lisboa, v. 33, n. 1-2, p. 18-23, mar.  2014. Disponível em <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0870-11642014000100003&lng=pt&nrm=iso>.

BOARI, C. A.; ALVES, M.P.; TEBALDI, V.M.R.; SAVIAN, T.V.; PICCOLI, R.H. Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila e Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.886-895, 2009.

BOARI, Cleube Andrade. Formação de biofilme em aço inoxidável por Aeromonas hydrophila e Staphylococcus aureus sob diferentes condições de cultivo. 2008. 80f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAIXETA, Danila Soares. **Sanificantes químicos no controle de biofilmes formados por duas espécies de *Pseudomonas* em superfície de aço inoxidável**. 2008. 75f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CASALINI, J. Biofilmes Microbianos na Indústria de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2008.

CONSTERTON, J.W., MARRIE, T. J., CHENG, K. J., Phenomena of bacterial adhesion. In: **Bacterial Adhesion.** Savage, D.C., Fletcher, M (Ed.) London: Plenum Press, p.3-43, 1985.

FLACH, J.; KARNOPP, C.; CORÇÃO, G. Biofilmes formados em matéria-prima em contato com leite: fatores de virulência envolvidos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 33(3): 291-296, 2005.

FORSYTHE, Stephen J. Microbiologia da segurança alimentar. 1.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 151-153p.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 602p.

GRANDI, Aline Zago de. **Influência de moléculas autoindutoras produzidas por Escherichia coli na formação de biofilme por Listeria monocytogenes**. 2015. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidad de São Paulo, São Paulo, 2015. doi:10.11606/T.9.2015.tde-26082015-163826. Acesso em: 2016-09-18.

HALL- STOODLEY, L.; CONSTERTON, J.W.; STOODLEY, P. Bacterial Biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature Rewiew Microbiology,** v.2, p.95-108, 2004.

KASNOWSKI, C. M.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, T. A. L.; FRANCO, M. R. Formação de biofilmes na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano III, v. 15, 2010. Disponível em: [www.revista.inf.br/veterinaria15/revisão/ANOIIIEDI15RL07.pdf](http://www.revista.inf.br/veterinaria15/revis%C3%A3o/ANOIIIEDI15RL07.pdf).

KYAW, C.M. Biofilmes Microbianos. Disponível em <www.unb.br/ib/cel/microbiologia/biofilme/biofilme htm>. Acesso em 12 de outubro de 2008.

MACEDO, Jorge Antônio Barros. MILKNET. **Biofilmes Bacterianos:** **Uma Preocupação Para a Indústria de Alimentos**. 18 de julho de 2006. Disponível em<www.milknet.com.br>.

PARIZZI, S.  Q.  F., *et al.* Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method. **Brazilian Archives of Biology Technology.** Mar. 2004, vol.47, no.1, p.77-83. ISSN 1516-8913. 2004.

RENNER, L.D.; WEIBEL, D.B. Physicochemical regulation of biofilm formation. Materials Research Society Bulletin, v.36, p 1-9, 2011.

XAVIER, K.B.; BASSLER, B.L. Interference with AI-2- Mediated Bacterial Cell-Cell Comunication. Nature, v.437, n.7059, p.750-753, 2005.

ZOTOLLA, E.A., Microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry? Food Tecnology, v.48, n.7, p.107-114, 1994.

1. Acadêmica do curso de Tecnologia em Alimentos da FAI-Faculdades, Itapiranga – SC. Email: deisidewes@hotmail.com

²Coordenadora do curso de Tecnologia em Alimentos da FAI Faculdades, Itapiranga – SC. Email: alimentos@seifai.edu.br. [↑](#footnote-ref-1)