



AVALIAÇÃO DE SANITIZANTES PARA O CONTROLE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM SUPERFÍCIES DE AÇO INOXIDÁVEL

Elaine V. GENEROSO¹; Sandra M. O. M. VEIGA²; Kátia A. CAMPOS³; Guilherme A. I. OMIYA⁴; Isadora G. S. da SILVA⁵.

RESUMO

Apesar dos procedimentos de limpeza, sanitização e boas práticas de fabricação, micro-organismos como o patógeno *Listeria monocytogenes*, podem permanecer em superfícies devido à formação de biofilmes. Para a realização do presente trabalho, foram utilizados cupons de aço inoxidável com a cepa de *Listeria monocytogenes* aderida. Após procedimento de adesão, os cupons foram submetidos aos tratamentos em meio aquoso, a frio, empregando: hipoclorito de sódio (100mg/L) (T1); dicloroisocianurato de sódio (DCIS) (100 mg/L) (T2); gás ozônio (O3) (15mg/L, pressão de 0,5 Kgf e fluxo de 5 L/min de O2) (T3); e ultrassom (40 kHz) (T4). Os cupons controle (TC) foram enxaguados com solução salina 0,9%, estéril. Nas condições deste trabalho, houve adesão de *L. monocytogenes* às superfícies. Dentre os tratamentos, o hipoclorito de sódio (T1) e DCIS (T2) apresentaram melhor eficiência, com capacidade de eliminar a microbiota aderida. O tratamento utilizando gás ozônio (T3) apresentou redução superior a 3 ciclos de Log sobre os cupons lisos, sendo capaz de eliminar as células do patógeno. O ultrassom (T4) foi o menos eficaz dentre os testados.

Palavras-chave:

Biofilme; Dicloroisocianurato de sódio; Ozônio; Sanitização.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação microbiológica é uma das mais preocupantes para a indústria de alimentos, sendo a prevenção e o controle da formação de biofilmes um desafio constante (Bonsaglia et al., 2014). A *Listeria monocytogenes* é notadamente um dos micro-organismos mais estudados quanto à capacidade de formar biofilmes, pois está entre os patógenos humanos mais graves (Skowron et al., 2019; Aryal; Muriana, 2019).

O aço inoxidável é o material mais utilizado na fabricação de equipamentos e utensílios para o processamento de alimentos devido a sua resistência à corrosão e à oxidação e por ser de fácil higienização. Micro-organismos podem permanecer em superfícies, mesmo após procedimentos de higienização, podendo formar biofilmes e se tornar de 10 a 1000 vezes mais resistentes aos sanitizantes (Ouyang et al., 2012).

Considerando a necessidade de agentes sanitizantes mais eficazes para a eliminação de

¹Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: elainevilela1@yahoo.com.br.

²Orientadora do Mestrado profissional em Ciências e Tecnologia de Alimentos, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: sandra.veiga@unifal-mg.edu.br.

³Docente do Mestrado profissional em Ciências e Tecnologia de Alimentos, IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: katia.campos@ifsuldeminas.edu.br.

⁴Discente do curso de Biologia, UNIFAL – *Campus* Alfenas. E-mail: guilherme.omiya@sou.unifal-mg.edu.br.

⁵Farmacêutica graduada pela UNIFAL – *Campus* Alfenas. E-mail: isadora.gonzales@hotmail.com.

micro-organismos em superfícies, menos tóxicos ao ser humano e ao meio ambiente, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos sanitizantes hipoclorito de sódio, dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultrassom na redução de células sésseis de *Listeria monocytogenes* em cupons de aço inoxidável (AISI 304), com diferentes tipos de superfícies (lisas e rugosas).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o procedimento de adesão microbiana, foram utilizados cupons de aço inoxidável (AISI 304) com superfícies lisas e rugosas, com dimensões de 2,5cm x 7,5cm, sendo os mesmos contaminados artificialmente com a cepa de *Listeria monocytogenes* ATCC 19111.

Para preparar o meio facilitador da adesão bacteriana, inoculou-se 1 mL da suspensão do micro-organismo ($3,0 \times 10^8$ bactérias/mL) em 1000 mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB), sendo que a concentração final foi de aproximadamente $3,0 \times 10^5$ UFC bactérias/mL.

Após a adesão, os cupons foram submetidos aos seguintes tratamentos, em meio aquoso e a frio (15°C e 20°C): hipoclorito de sódio (100mg/L) (T1); dicloroisocianurato de sódio (DCIS) (100 mg/L) (T2); ozônio (O3) (15mg/L, pressão de 0,5 Kgf e fluxo de 5 L/min de O2) (T3); e ultrassom (40 kHz) (T4). Os cupons controle (TC) foram apenas enxaguados em solução salina 0,9% estéril. Esses tratamentos fundamentaram-se em Veiga (2003), Forgerini, Oliveira e Fernandes Júnior (2015) e Generoso (2021).

Após os tratamentos, empregou-se a técnica de Swab, sendo a amostragem realizada em pares de cupons, perfazendo uma área total de 37,5 cm². Os ensaios microbiológicos foram conduzidos conforme Silva et al. (2021).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 – Comparação múltipla (Tukey) da eficácia dos tratamentos na redução de *L. monocytogenes* nos cupons de aço inoxidável lisos e rugosos.

Tratamento	Lisos		Rugosos	
T1	5,10	Aa	5,07	Aa
T2	5,10	Aa	5,07	Aa
T3	4,40	Aa	2,74	Bb
T4	1,22	Ab	0,45	Ac

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. T1 – hipoclorito de sódio; T2 – DCIS; T3 – gás ozônio e T4 – ultrassom.

Dentro do grupo de cupons lisos não houve diferença significativa entre os tratamentos T1, T2 e T3, sendo estes significativamente mais eficientes do que o tratamento T4. Já no grupo de cupons rugosos, não houve diferença significativa entre os tratamentos T1 e T2, estes foram significativamente mais eficientes do que os tratamentos T3 e T4, ainda o tratamento T4 apresentou menor eficiência em comparação ao T3 (Tabela 1).

Comparando a eficiência dos tratamentos entre os tipos de cupons, não houve diferença significativa entre as diferentes superfícies nos tratamentos T1 e T2. Os tratamentos T3 e T4 apresentaram diferença significativa entre os tipos de cupons, dado que ambos apresentaram melhor eficiência sobre os cupons lisos (Tabela 1).

Tabela 2 – Eficácia dos sanitizantes sobre as superfícies dos cupons de aço inoxidável, lisos e rugosos, em comparação ao controle (TC), avaliada pelo fator de redução logarítmica¹.

Tratamentos	Lisos	Rugosos
	Taxa de redução ± desvio padrão	Taxa de redução ± desvio padrão
T1	5,10 ± <0,01	5,07 ± 0,0
T2	5,10 ± <0,01	5,07 ± 0,0
T3	4,40 ± 1,22	2,74 ± 0,04
T4	1,22 ± 0,23	0,46 ± 0,36
TC	5,10 ± 0,06 ²	5,07 ± 0,09 ²

1. Log_{10} da média da contagem do tratamento controle (UFC/cm²) menos o Log_{10} da média da contagem após os tratamentos (UFC/cm²); 2. Log_{10} da média da contagem do tratamento controle (UFC/cm²). TC – controle; T1 – hipoclorito de sódio; T2 – DCIS; T3 – ozônio e T4 – ultrassom.

No presente estudo, os tratamentos T1 e T2 implicaram na redução de 5,10 Log UFC/cm² para os cupons lisos e de 5,07 Log UFC/cm² para os rugosos. Em ambos os casos, os tratamentos foram altamente eficientes com completa eliminação do micro-organismo (AOAC, 2010).

Corroborando com o presente estudo, Silva (2009) avaliando a eficiência do hipoclorito de sódio e da água ozonizada em superfícies internas de tubulação de aço inoxidável, com presença de biofilme de *L. monocytogenes*, observou que o cloro foi eficiente como agente sanificante com a eliminação total do micro-organismo.

Os tratamentos T3 e T4 não foram capazes de eliminar totalmente os micro-organismos aderidos aos cupons, todavia os cupons lisos apresentaram redução satisfatória no tratamento com gás ozônio de acordo com Aarnisalo et al., (2007), que propõem redução de pelo menos 3 ciclos log para bactérias aderidas às superfícies após tratamentos sanitizantes; Neste estudo, os tratamentos T3 e T4 apresentaram melhor eficiência na eliminação de células de *L. monocytogenes* aderidas aos cupons lisos em comparação aos cupons rugosos, com redução de 4,40 Log UFC/cm² (T3), 1,22 Log UFC/cm² (T4) e 2,74 Log UFC/cm² (T3), 0,45 Log UFC/cm² (T4) sobre os cupons lisos e rugosos, respectivamente (Tabela 2).

Além da proteção das células a agentes externos como os sanitizantes, a rugosidade contribui para o estabelecimento da adesão irreversível dos micro-organismos que utilizam do interior das irregularidades para fixação (Machado, 2005). A maior quantidade de irregularidades nos cupons de superfície rugosa pode justificar a menor eficiência dos tratamentos T3 e T4 na eliminação de células de *L. monocytogenes* aderidas aos cupons de superfície rugosa em comparação aos de superfície lisa (Tabela 2).

5. CONCLUSÃO

Com esse estudo foi possível concluir que a utilização de compostos clorados como o hipoclorito de sódio e DCIS tem potencial para a completa eliminação de células de *L. monocytogenes* aderidas à superfícies de aço inoxidável.

Nas condições testadas, os demais tratamentos demonstram que a análise das superfícies a serem aplicados se faz crucial para um resultado eficaz, visto que o gás ozônio pode apresentar resultados superiores em superfícies com menor número de irregularidades. O ultrassom demonstra ser ineficiente sobre o aço inoxidável se usado de forma isolada. Considerando esse aspecto, uma alternativa seria aumentar a ação sanitizante do ultrassom associando-o ao calor ou a sanitizantes químicos.

REFERÊNCIAS

- AARNISALO, K; SALO, S; MIETTINEN, H; SUIHK, M.; WIRTANEN, G; AUTIO, T; LUNDÉN, J; KORKEALA, H; SJÖBERG, A. Bactericidal efficiencies of commercial disinfectants against *Listeria monocytogenes* on surfaces. **Journal Food Safety**, n.20, pag. 237-250. 2007.
- A.O.A.C. (960 09). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th Edition. Revision 3. ISBN 0-935584-80-3 .United States of America: AOAC International. 2010.
- ARYAL, M.; MURIANA, P. M. Efficacy of Commercial Sanitizers Used in Food Processing Facilities for Inactivation of *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, and Salmonella Biofilms. **Foods**, v. 8, p. 639, 2019.
- BONSAGLIA, E. C. R. et al. Production of biofilm by *Listeria monocytogenes* in different materials and temperatures. **Food Control**, v. 35, p. 386-91, 2014.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.
- FORGERINI, M.; OLIVEIRA, A. C. P.; FERNANDES JÚNIOR, A. A. **Sanificação de superfície de aço inoxidável contaminado por *Pseudomonas aeruginosa***. 2015. 41f. Monografia (Especialização em Microbiologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2015.
- GENEROSO, E. V. **Avaliação de sanitizantes para o controle de *Listeria monocytogenes* em superfícies de aço inoxidável**. 2021. 35 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Machado, 2021.
- MACHADO, S. M. O. **Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controle da formação de biofilmes indesejáveis**. 2005. 114f. Tese de Doutorado em Tecnologia do Ambiente) – Universidade do Minho, Braga, 2005.
- OUYANG, Y.; LI, J.; DONG, Y.; BLAKELY, L. V.; CAO, M. Genome-wide screening of genes required for *Listeria monocytogenes* biofilm formation. **Biot. Res**, v. 4, p. 13-25, 2012.
- SILVA, D. B. da. **Atuação do ozônio sobre biofilme de *Listeria monocytogenes* em tubulação de aço inoxidável**. 2009. 92 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- SILVA, N; AMSTALDEN, V. C; SILVEIRA, N. F. A; TANIWAKI, M. H; GOMES, R. A. R; OKAZAKI, M. M; IAMANAKA, B. T. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 6ed. São Paulo: Blucher. 2021. 602p.
- SKOWRON, K. et al. Biocidal effectiveness of selected disinfectants solutions based on water and ozonated water against *Listeria monocytogenes* strains. **Microorganisms**, v. 7, p. 127, 2019.
- VEIGA, S. M. O. M. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. 291 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.