

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ÁGUA ELETROQUIMICAMENTE
ATIVADA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARÇAÇAS E NA
FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM
SUPERFÍCIES DE MATADOURO FRIGORÍFICO DE AVES**

Tese de Doutorado

Daiane Elisa Wilsmann

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ÁGUA ELETROQUIMICAMENTE
ATIVADA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARCAÇAS E NA
FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM
SUPERFÍCIES DE MATADOURO FRIGORÍFICO DE AVES**

Autora: Daiane Elisa Wilsmann

**Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Doutora em Ciências
Veterinárias na área de Medicina Veterinária
Preventiva.**

**Orientador: Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do
Nascimento**

Coorientador: Dr. Thales Quedi Furian

PORTO ALEGRE

2022

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Wilsmann, Daiane Elisa

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ÁGUA ELETROQUIMICAMENTE ATIVADA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARCAÇAS E NA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE SALMONELLA HEIDELBERG EM SUPERFÍCIES DE MATADOURO FRIGORÍFICO DE AVES / Daiane Elisa Wilsmann. -- 2022.

103 f.

Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento.

Coorientador: Thales Quedi Furian.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Água eletroquimicamente ativada. 2. Salmonella Heidelberg. 3. Biofilmes. 4. Desinfetantes. I. Pinheiro do Nascimento, Vladimir, orient. II. Quedi Furian, Thales, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DAIANE ELISA WILSMANN

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA ÁGUA ELETROQUIMICAMENTE
ATIVADA NA REDUÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE CARCAÇAS E NA
FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM SUPERFÍCIES
DE MATADOURO FRIGORÍFICO DE AVES

Aprovada em MAIO 2022.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento
Orientador e Presidente da comissão

Dr. Thales Quedi Furian
Coorientador

Prof. PhD Lenita de Cássia Moura Stefani
Membro da Comissão

Prof. Dr. Cláudio Dias Timm
Membro da Comissão

Dra. Karen Apellanis Borges
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser esse Pai de amor e Sua presença insubstituível em minha vida. Todos os momentos que vivi, bons e ruins, me tornaram melhor, ensinaram a disciplina, a perseverança, paciência e outras qualidades, que se não fossem as adversidades eu não conheceria.

Ao meu marido Nikolas, por ser o meu maior incentivador, por todos os dias que você me ajudou, com palavras positivas e abraços reconfortantes, obrigada por tudo.

Aos meus pais, Mildi e Sinécio, por apoiarem os meus sonhos, sendo o meu porto seguro, lugar de aconchego e amor. Ao meu irmão César, pela amizade, conselhos e incentivos.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela disponibilidade, ensino e infraestrutura para realização deste projeto.

Agradeço ao meu orientador, professor Vladimir Pinheiro do Nascimento, pela oportunidade de realizar o doutorado na UFRGS, e pela confiança para o desenvolvimento deste projeto.

Ao coorientador Thales Quedi Furian, por todo suporte ao longo dos meus anos no CDPA, pela presença e orientação durante o projeto, dedicação, disposição de ajudar e conhecimento, muito obrigada!

À American Nutrients, em especial ao Abrahão e Claus, por acreditarem em mim e no projeto, agradeço por todo suporte financeiro e estrutural.

Agradeço a ajuda valiosa da Karen e Daiane Carvalho, que auxiliaram nas etapas do projeto e debateram ideias e metodologias, enriquecendo o meu conhecimento.

Aos colegas e amigos do CDPA, Gabriela Zottis, Bruna Webber, Karine Pontin, Vivian Lucca, Bruna Emery pela ajuda, apoio e amizade. Levarei vocês sempre comigo.

Ao Theodore e Harry, por serem minha companhia durante os longos meses de isolamento devido à pandemia.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração do projeto.

*I remember, You have always been faithful to me
I remember, even when my own eyes could not see
You were there, always there, with me*

(Lauren Daigle)

RESUMO

O desenvolvimento de novas tecnologias e a constante busca pelo aperfeiçoamento dos processos que garantam a segurança dos alimentos impulsionam estudos que visam conhecer melhor as características de patógenos que, quando presentes, causam impactos negativos ao setor avícola. *Salmonella* Heidelberg (SH) é o sorovar que se destacou nos últimos anos devido a sua alta prevalência e multirresistência aos antimicrobianos. O mundo está enfrentando um crescente surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos e a necessidade de reduzir o seu uso indiscriminado é fundamental, assim como a busca por produtos que diminuam os impactos ambientais. A água eletroquimicamente ativada (ECAW) é um biocida produzido a partir de água, sal e eletricidade, sendo o ácido hipocloroso (HClO) seu principal componente, além do cloro e outros radicais livres, aliado ao potencial oxido-reduzidor. Buscou-se nesse estudo avaliar a eficácia da ECAW no controle de SH presente em biofilmes em superfícies utilizadas na cadeia produtiva e em carne de frango. Foram avaliados também outros detergentes e desinfetantes já utilizados pela indústria avícola. Avaliou-se a capacidade da ECAW na prevenção e remoção de biofilmes de SH em poliestireno em tempos de 10 e 20 minutos de ação e em temperaturas de 25°C e 37°C. A ECAW removeu até 57% do biofilme em 20 minutos de contato e preveniu até 58% a formação de biofilme de SH. Nos testes em aço inoxidável e polietileno, superfícies comumente utilizadas na indústria alimentícia, foi possível identificar a capacidade da SH em formar biofilme em temperaturas de 25°C e 37°C. A ECAW removeu até 5 log UFC de SH nestas superfícies, em 20 minutos de contato e na concentração de 200 ppm. Quando comparada aos desinfetantes já utilizados na indústria, não houve diferença entre os produtos. Além disso, o efeito residual da ECAW foi testado em superfícies de borracha a 25°C. A ECAW apresentou um efeito residual de até 9 horas frente a SH. O efeito bactericida da ECAW foi testado, na concentração de 50 ppm, em matriz cárnea na temperatura de 7°C por 5, 30 minutos e 1 hora, sendo a ECAW eficiente para redução da carga microbiana em diferentes tempos de contato com a matriz confrontada. A capacidade da ECAW de corroer o aço inoxidável e o ferro galvanizado, materiais utilizados na indústria alimentícia e produção animal, foi avaliado. A ECAW não apresentou um efeito corrosivo significativamente superior aos outros desinfetantes. Os resultados demonstram a eficácia da ECAW no controle de SH e reforçam a possibilidade dessa tecnologia em ser uma alternativa viável no controle de patógenos nos frigoríficos avícolas.

Palavras-chave: água eletroquimicamente ativada, *Salmonella* Heidelberg, biofilmes, susceptibilidade antimicrobiana.

ABSTRACT

The development of new technologies and the constant search for the improvement of processes that guarantee food safety leads to studies that aim to better understand the characteristics of pathogens that, when present, cause negative impacts on the poultry industry. Salmonella Heidelberg (SH) is the serovar that has stood out in recent years due to its high prevalence and multi-resistance to antimicrobials. The world is facing a growing emergence of antibiotic-resistant bacteria and the need to reduce their indiscriminate use is fundamental, as is the search for products that reduce environmental impacts. Electrochemically activated water (ECAW) is a biocide produced from water, salt and electricity, hypochlorous acid (HClO) is its main component, in addition to chlorine and other free radicals, combined with the oxi-reducing potential. The aim of this study was to evaluate the efficacy of ECAW in the control of SH present in biofilms on surfaces commonly used in the industry. Other detergents and disinfectants already used by the poultry industry were also evaluated. The ability of ECAW to prevent and remove SH biofilms in polystyrene was evaluated at the contact time of 10 and 20 minutes at temperatures of 25°C and 37°C. ECAW removed up to 57% of biofilm within 20 minutes of contact and prevented up to 58% of SH biofilm formation. In tests on stainless steel and polyethylene, surfaces commonly used in the food industry, it was possible to identify the ability of SH to form biofilms at temperatures of 25°C and 37°C. ECAW removed up to 5 log CFU of SH on these surfaces, in 20 minutes of contact and at a concentration of 200 ppm. When compared to disinfectants already used in the poultry industry, there was no difference between the products. In addition, the residual effect of ECAW was tested on rubber surfaces at 25°C. ECAW showed a residual effect of up to 9 hours against SH. The bactericidal effect of ECAW was tested, at a concentration of 50 ppm, in meat matrix at a temperature of 7°C for 5, 30 minutes and 1 hour, with ECAW being efficient to reduce the microbial load. The capacity of ECAW to corrode stainless steel and galvanized iron, materials used in the food industry and animal production, was evaluated. ECAW did not have a significantly superior corrosive effect than other disinfectants. The results demonstrate the effectiveness of ECAW in the control of SH and reinforce the possibility of this technology being a viable alternative in the control of pathogens in poultry slaughterhouses.

Keywords: electrochemically activated water, Salmonella Heidelberg, biofilms, antimicrobial susceptibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema da geração da água eletroquimicamente ativada e seus compostos.....	36
Figura 2	Micrografias obtidas através de microscopia confocal de varredura da formação de biofilme por <i>Salmonella</i> Heidelberg nas superfícies avaliadas: aço inoxidável - AISI 316 (A) e polietileno (B e C)	61
Figura 3	Micrografias obtidas através de microscopia confocal de varredura da formação de biofilme por <i>Salmonella</i> Heidelberg a 25°C, após o tratamento com água eletroquimicamente ativada.....	70
Figura 4	Micrografias obtidas através de microscopia confocal de varredura da formação de biofilme por <i>Salmonella</i> Heidelberg a 25°C, após o tratamento com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio.....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Média (%) de remoção de biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg após o tratamento com água eletroquimicamente ativada (ECAW) e com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio (A) a 25°C e 37°C, conforme a variação da concentração do produto e do tempo de contato.....	44
Tabela 2	Média (%) de remoção de biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg após o tratamento com os detergentes alcalino e ácido a 25°C e 37°C, conforme a variação do tempo de contato e da concentração dos produtos.....	48
Tabela 3	Média (%) de prevenção da formação de biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg após o tratamento com água eletroquimicamente ativada (ECAW), com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio (A), detergentes alcalino e ácido por 24 horas, conforme a variação da concentração do produto e da temperatura.....	51
Tabela 4	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC.cm ⁻²) obtidas no ensaio de formação de biofilme por <i>Salmonella</i> Heidelberg, conforme a superfície de contato e a temperatura.....	57
Tabela 5	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC.cm ⁻²) após o tratamento do biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg em aço inoxidável e polietileno com a água eletroquimicamente ativada (ECAW) e com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio (A), conforme a variação da temperatura e do tempo de contato.....	63
Tabela 6	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC.cm ⁻²) após o tratamento do biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg a 25°C e 37°C com a água eletroquimicamente ativada (ECAW) e com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio (A), conforme a variação do tempo de contato e da superfície.....	

		66
Tabela 7	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC.cm ⁻²) após o tratamento do biofilme de <i>Salmonella</i> Heidelberg por 10 e 20 minutos com a água eletroquimicamente ativada (ECAW) e com o desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio (A), conforme a variação da superfície e da temperatura de incubação.....	67
Tabela 8	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC.cm ⁻²) após o tratamento da borracha inoculada com <i>Salmonella</i> Heidelberg e tratada com a água eletroquimicamente ativada (ECAW), conforme a variação do tempo de contato com o produto.....	75
Tabela 9	Média das contagens bacterianas (\log_{10} UFC/g) após o tratamento de carne de frango crua contaminada com <i>Salmonella</i> Heidelberg com a água eletroquimicamente ativada (ECAW), conforme o tempo de contato.....	78
Tabela 10	Média da densidade de corrente de corrosão ($\log A/cm^2$) do aço inoxidável e do aço galvanizado na presença da água eletroquimicamente ativada (ECAW) e dos desinfetantes à base de cloreto de didecil dimetil amônio (A) e ácido peracético (D), conforme a concentração dos produtos.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
AEOW	Água Eletroquimicamente Ativada Acidificada
AHL'S	N-Acil-Hemossiderina-Lactona
AI	Auto-Indutores
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APT	Água Peptonada Tamponada
ATP	Adenosina Trifosfato
BHI	<i>Brain Heart Infusion Broth</i> (caldo cérebro-coração)
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAC	Comissão do <i>Codex Alimentarius</i>
CDC	<i>Centers of Disease Control and Prevention</i> (Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos)
CDPA	Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária
Cl ⁻	Íons Cloro
CLSM	<i>Confocal Laser Scanning Microscopy</i> (Microscopia confocal a laser)
Cl ₂	Gás Cloro
CMM	Centro de Microscopia e Microanálise
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
DO	Densidade Óptica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECAW	Água Eletroquimicamente Ativada
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos)
EPS	<i>Extracellular Polymeric Substances</i> (substâncias poliméricas extracelulares)
EUA	Estados Unidos da América
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Administração de Alimentos e Medicamentos)

FAVET	Faculdade de Veterinária
H ⁺	Íons Hidrogênio
H ₂	Gás Hidrogênio
HCl	Ácido Clorídrico
HClO	Ácido Hipocloroso
IN	Instrução Normativa
KWL	<i>Kauffmann-White-LeMinor</i>
Kg	Quilograma
LABCOR	Laboratório de Corrosão
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Na ⁺	Íons Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NaClO	Hipoclorito de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
O ₂	Gás Oxigênio
OCl ₂	Hipoclorito
OCP	Potencial de Circuito Aberto
OH ⁻	Íons Hidróxido
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)
ORP	Potencial de Redução
PCA	<i>Plate Count Agar</i> (ágar para contagem em placa)
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
ppm	Partes por milhão
QS	<i>Quorum-Sensing</i>
RASFF	<i>Rapid Alert System for Food and Feed</i> (Sistema de Alerta Rápido para os Gêneros Alimentícios e Alimentos para Animais)
RS	Rio Grande do Sul
RJ	Rio de Janeiro
SAEOW	Solução Levemente Acidificada de Água Eletroquimicamente Ativada
SH	<i>Salmonella</i> Heidelberg
SIF	Serviço de Inspeção Federal
THM	Trihalometanos

TSA	<i>Tryptone Soy Agar</i> (ágar triptona de soja)
TSB	<i>Tryptone Soy Broth Without Dextrose</i> (ágar triptona de soja sem glicose)
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UNIVATES	Universidade do Vale do Taquari
USDA - FSIS	<i>United States Department of Agriculture - Food Safety and Inspection Service</i> (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – Serviço de Inspeção e Segurança dos Alimentos)
XLD	<i>Xylose Lysine Deoxycholate</i> (xilose-lisina-desoxicolato)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
μL	Microlitro
mV	Milivolt
nm	Nanômetro
n°	Número
%	Porcentagem
pH	Potencial Hidrogeniônico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
3.1 Gênero <i>Salmonella</i>	21
3.2 <i>Salmonella</i> em saúde pública e os controles desenvolvidos pela cadeia avícola	22
3.3 <i>Salmonella</i> Heidelberg	24
3.4 Higiene na indústria de alimentos	26
3.4.1 O processo de higienização	26
3.4.2 Principais desinfetantes utilizados na indústria de alimentos	27
3.5 Biofilmes microbianos	29
3.6 Biofilmes na indústria alimentícia	31
3.6.1 Superfícies de adesão	32
3.7 Métodos alternativos para controle de biofilmes	33
3.7.1 Água eletroquimicamente ativada.....	33
3.8 Ensaios de polarização potencioestática	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÊNDICE A – Isolados de <i>Salmonella</i> Heidelberg utilizados no experimento	54

1 INTRODUÇÃO

O mercado avícola é um importante setor para a economia de diversos países, em especial para o Brasil. O país ocupa a posição de maior exportador mundial de carne de frango, sendo responsável, somente no ano de 2020, por mais de 35% da exportação mundial (ABPA, 2021). Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), a região sul do Brasil representou 64,37% da produção total de carne de frango obtida em 2020. Desse montante, o estado do Rio Grande do Sul (RS) foi responsável por 14,02% da produção (ABPA, 2021). Já o consumo *per capita* de carne de frango no Brasil aumentou de 42,84 Kg/habitante/ano em 2019 para 45,27 Kg/habitante/ano em 2020.

Neste contexto, tamanha importância da avicultura para a economia brasileira faz com que o setor tenha que cumprir com uma demanda de exigências relacionadas a questões que envolvem sanidade, bem-estar animal, produtividade e qualidade dos produtos gerados. A presença de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp., afeta negativamente a indústria avícola, sendo o seu controle essencial desde a produção no campo, nos matadouros-frigoríficos até a obtenção do produto final. Esse patógeno possui relevância em saúde animal e pública, sendo os alimentos de origem avícola a principal fonte de transmissão. Aliado a isso, os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto à inocuidade e à qualidade dos produtos, levando à necessidade da adoção de medidas de controle mais rigorosas.

O gênero *Salmonella* pode ser dividido em dois grupos: tifoide, cujos hospedeiros são restritos, e não tifoide, grupo que não possui sorovares de *Salmonella* adaptados ao hospedeiro e que não ocasiona doenças sistêmicas. A epidemiologia complexa dessas salmoneloses engloba várias espécies de animais, além dos seres humanos, o que torna difícil o seu controle e favorece a ocorrência de infecções (ANDREATTI, 2020). Conforme dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (*Centers of Diseases Control and Prevention* - CDC) e da Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos (*European Food Safety Authority* - EFSA), as salmoneloses são a maior causa de gastroenterites nos Estados Unidos e a segunda causa de enterites na Europa, afetando cerca de 88.000 pessoas por ano (CDC; EFSA, 2021). Conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os principais sorovares encontrados em carcaças de frango e em aves vivas no Brasil são *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Mbandaka* (BRASIL, 2012). Recentemente, *S.*

Heidelberg emergiu como um dos principais sorovares em surtos alimentares relacionados com o consumo de produtos avícolas (GIERALTOWSKI *et al.*, 2016; DEWI *et al.*, 2021).

Uma característica bacteriana agravante é que múltiplos sorovares de *Salmonella* possuem a capacidade de formar biofilmes em diferentes superfícies (WANG *et al.*, 2015; BORGES *et al.*, 2018; WEBBER *et al.*, 2019). Estas estruturas favorecem a sobrevivência bacteriana em ambientes hostis, como em matadouros-frigoríficos e em indústrias processadoras de alimentos. Biofilmes são um grande problema em saúde pública, pois a ruptura destas estruturas pode provocar a liberação de microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, ocorrer a contaminação dos produtos. *S. Heidelberg* é capaz de produzir biofilmes, o que dificulta sua eliminação e reduz a ação de antimicrobianos, sendo essa uma preocupação na indústria avícola (BORGES *et al.*, 2018).

Além disto, a procura por compostos antimicrobianos eficazes e ambientalmente corretos tem-se mostrado expressiva nos últimos anos. O objetivo é diminuir os problemas da resistência antimicrobiana e melhorar a qualidade dos processos de higienização, reduzindo assim as chances de microrganismos patogênicos estarem presentes nos alimentos. Aliado a este fato, tem-se a necessidade de reduzir o uso indiscriminado de antimicrobianos sintéticos, tanto na medicina humana como na área veterinária. Frente a isso, a água eletroquimicamente ativada (ECAW) torna-se uma importante ferramenta a ser avaliada como uma alternativa aos desinfetantes comumente utilizados, já que resultados iniciais demonstraram que a ECAW é efetiva na redução de *S. Heidelberg* (WILSMANN *et al.*, 2019).

Nesse intuito, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação da ECAW na remoção e na prevenção de biofilme por cepas de *Salmonella Heidelberg* (SH), e na redução da contagem bacteriana em carne de frango experimentalmente contaminada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliação da atividade antimicrobiana da ECAW frente a biofilmes formados por *Salmonella* Heidelberg de origem avícola em superfícies de equipamentos em frigoríficos avícolas e na redução da contaminação bacteriana da carne de frango.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinação da capacidade de formação de biofilme por cepas de *S. Heidelberg* de origem avícola em microplacas de poliestireno e em cupons de aço inoxidável e polietileno.
- Avaliação da eficácia da ECAW, de um desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio, de um detergente alcalino e de um detergente ácido na prevenção da formação de biofilmes de *S. Heidelberg* em microplacas de poliestireno em diferentes temperaturas de incubação, concentrações e tempos de contato.
- Avaliação da eficácia da ECAW, de um desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio, de um detergente alcalino e de um detergente ácido na remoção de biofilmes de *S. Heidelberg* em microplacas de poliestireno em diferentes temperaturas de incubação, concentrações e tempos de contato.
- Avaliação da eficácia da ECAW e de um desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio na remoção de biofilme de *S. Heidelberg* em cupons de aço inoxidável e de polietileno em diferentes temperaturas de incubação e tempos de contato.
- Avaliação da capacidade da ECAW em reduzir a contaminação por *S. Heidelberg* em carcaças de frango inoculadas experimentalmente.
- Avaliação do período de viabilidade da ECAW e de um desinfetante à base de cloridrato de polihexametileno biguanida e cloreto de benzalcônio em superfícies de borracha.

- Avaliação da densidade de corrente de corrosão da ECAW estimada em ensaios de polarização potencioestática.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Gênero *Salmonella*

O gênero *Salmonella* está amplamente distribuído no ambiente, tendo sido inicialmente isolado e identificado por Daniel Elmer Salmon em 1885. *Salmonella* é uma bactéria Gram negativa, anaeróbia facultativa, não formadora de esporos e com formato de bacilos curtos. A maioria das espécies é móvel (com exceção dos sorovares *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*), possuindo flagelos peritríquios. A partir da fermentação da glicose, a bactéria produz ácido e gás, porém é incapaz de metabolizar a lactose e a sacarose. As espécies apresentam temperatura ótima de crescimento a aproximadamente 37°C (TORTORA *et al.*, 2012). Crescem em pH entre 4 e 9, sendo 7 o ideal, e são relativamente termossensíveis, podendo ser destruídas a 60°C após 15 a 20 minutos de exposição (FORSYTHE, 2013, RYAN; O'DWYER; ADLEY, 2017).

O gênero *Salmonella* é pertencente à família *Enterobacteriaceae*, a qual possui mais de 50 gêneros bacterianos, incluindo um grande número de patógenos, como *Escherichia coli*, *Yersinia* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp., entre outros. Estudos genéticos estimam que os genomas de *E. coli* e de *Salmonella enterica* possuam uma diferença de apenas 10% nas suas sequências de DNA, sugerindo que estas espécies tenham derivado de um ancestral comum há 100 milhões de anos (JONG *et al.*, 2012).

A classificação do gênero reconhecida atualmente inclui duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, a qual apresenta seis subespécies: *S. enterica* subespécie *enterica* (I), *S. enterica* subespécie *salamae* (II), *S. enterica* subespécie *arizonae* (IIIa), *S. enterica* subespécie *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* subespécie *houtenae* (IV), *S. enterica* subespécie *indica* (VI). Essas subespécies podem ser diferenciadas bioquimicamente ou através de análise antigênica. Bactérias classificadas como *Salmonella enterica* subespécie *enterica* representam 99,5% dos microrganismos isolados do gênero (GRIMONT; WEIL, 2007).

Além da classificação em espécies e subespécies, existe a classificação das cepas em sorogrupos. A bactéria *Salmonella*, assim como outras enterobactérias, possui antígenos O (somáticos) que correspondem à porção mais externa da cobertura da superfície das bactérias e antígenos H (flagelares), sendo essa uma estrutura filiforme delgada. Alguns grupos também possuem o antígeno Vi (capsular) (BRENNER *et al.*, 2000; TORTORA *et al.* 2012). Os antígenos O são polissacarídeos termoestáveis e podem

ser distinguidos pela sua diferente composição. Os antígenos H são constituídos por proteínas termolábeis e distinguem-se pelo teor de proteína dos flagelos. Cada antígeno O e H tem um número de código único e o sorogrupo é determinado baseado na combinação antigênica distinta de O e H (GRIMONT; WEILL, 2007). Atualmente já foram descritos mais de 2.600 sorovares através do esquema *Kauffmann-White-LeMinor* (KWL), caracterizando-se os diferentes sorovares do gênero com base em suas fórmulas antigênicas (ISSENHUTH-JEANJEAN *et al.*, 2014). De todos os sorovares de *Salmonella* já descritos, menos de 100 são os responsáveis pela maioria das infecções humanas. Aproximadamente 60% dos sorovares isolados de diferentes fontes pertencem à subespécie *enterica* (GRIMONT; WEILL, 2007; LIBBY *et al.*, 2008).

3.2 *Salmonella* em saúde pública e os controles desenvolvidos pela cadeia avícola

Doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são definidas como doenças de natureza infecciosa ou tóxica, causadas por agentes que entram no organismo por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados. A Organização Mundial da Saúde (World Health Organization - WHO) estima que anualmente as DTAs causem a perda da qualidade de vida de aproximadamente 33 milhões de pessoas em todo o mundo, especialmente crianças com menos de cinco anos, e levando a óbito cerca de 420.000 pessoas. Especificamente, as doenças diarreicas são responsáveis pelo adoecimento de 550 milhões de pessoas e por causar 230.000 mortes todos os anos, sendo que os principais agentes etiológicos envolvidos são *Salmonella* não tifoides, *E. coli*, *Campylobacter* e Norovírus (WHO, 2018). Os sinais clínicos mais comuns que caracterizam os surtos de DTAs são: diarreia, dor abdominal, vômito e náuseas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Salmonella spp. é um dos principais agentes associados a DTAs em todo o mundo, causando grandes prejuízos anualmente (WHO, 2018; CDC, 2019). A salmonelose é uma doença alimentar comum e amplamente distribuída, sendo considerada a principal causadora de diarreia nos seres humanos (WHO, 2018). Segundo dados da EFSA, um em cada três casos e surtos alimentares ocorridos na União Europeia em 2018 foi causado por *Salmonella* (EFSA, 2019). Conforme dados do CDC, 1,35 milhões de pessoas ficam doentes anualmente, 26.500 são hospitalizadas e 420 morrem em decorrência de *Salmonella* spp. associada com DTAs nos Estados Unidos (CDC, 2022).

No Brasil, os principais microrganismos envolvidos em casos de DTAs são: *E. coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*. Contudo, cabe ressaltar que grande parte dos surtos não teve o microrganismo identificado entre os anos de 2009 e 2018, correspondendo a 66,4% dos casos totais. No Brasil, *Salmonella* spp. é responsável por aproximadamente 30% dos casos (BRASIL, 2018). De acordo com os dados nacionais da Vigilância Epidemiológica, no ano de 2018, 6.803 pessoas adoeceram, sendo identificados 503 surtos de DTAs, 731 pacientes hospitalizados e nove óbitos relacionados. Em 2018, a água foi o alimento suspeito identificado mais frequentemente (29,9%), seguida pelos alimentos mistos (23,4%) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Dados do Ministério da Saúde apontam que no Brasil a maioria dos surtos são residenciais (BRASIL, 2018). Existem fatores sociais e educacionais envolvidos, pois é uma zoonose vinculada principalmente ao mal preparo dos alimentos, com destaque para os produtos avícolas e a contaminação cruzada (BRASIL, 2018).

No RS, *Salmonella* é responsável por aproximadamente 60% dos surtos de gastroenterite de origem infecciosa investigados (VEDTA, 2013). Entre 1980 e 2012, 4.071 surtos foram notificados no RS, sendo que 49.451 pessoas adoeceram e onze vieram a óbito.

Conforme o CDC, dentre os sorovares de maior relevância envolvidos em surtos de DTAs e relacionados a uma maior resistência antimicrobiana, destacam-se: *S. Typhimurium*, *S. Newport*, *S. Hadar* e *S. Heidelberg*, (CDC, 2016). Dentre as salmonelas que causam infecções em humanos, *S. Heidelberg* tem-se apresentado mais invasiva em comparação aos demais sorovares que podem ocasionar gastroenterite. Aproximadamente 13% dos pacientes com gastroenterite associada com *S. Heidelberg* desenvolvem infecção sistêmica (DEWI *et al.*, 2021; DUTIL *et al.*, 2010; NAKAO *et al.*, 2018). Além disto, em geral, este patógeno possui resistência à maioria das substâncias antimicrobianas, limitando as opções de tratamento em casos de salmoneloses (GIERALTOWSKI *et al.*, 2016; NISAR *et al.*, 2017; TAGG *et al.*, 2019).

Frente a esse desafio, legislações foram desenvolvidas para atender às exigências internacionais e garantir um produto inócuo aos consumidores. Em 1996, o Serviço de Inspeção e Segurança dos Alimentos (*Food Safety and Inspection Service* -FSIS), vinculado ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*Unites States Department of Agriculture* - USDA), estabeleceu o Programa de Verificação de *Salmonella* como parte do serviço de inspeção de patógenos. Com esse programa, foi

possível tomar medidas frente ao controle de *Salmonella* spp. em produtos e na indústria em geral (GAMBLE *et al.*, 2016).

Neste contexto, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou, em 2003, o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), que visa controlar importantes patógenos na avicultura, destacando-se os sorovares *S. Pullorum*, *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (BRASIL, 2003). Em 2003, também foi emitida a Instrução Normativa (IN) nº 70 que trata do Programa Nacional de Controle de Patógenos e visa conferir um controle maior sobre o processo de abate de carcaças de frangos para pesquisa de *Salmonella* spp, envolvendo todos os estabelecimentos de abate registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF). Esse monitoramento gera um banco de dados para análise dos índices de contaminação dos produtos avícolas, além de aumentar a garantia de qualidade (BRASIL, 2003b). Dessa forma, pode-se atender às exigências de segurança dos alimentos nos mercados interno e externo. De acordo com a IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019, é necessária a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g de produto (ANVISA, 2019).

Outro órgão importante no controle de patógenos é a Comissão do *Codex Alimentarius* (CAC) que, juntamente com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (*Food and Agriculture Organization of the United Nations* - FAO) e a WHO, criaram diretrizes para o controle de *Salmonella* spp. em carnes de frango (FAO/WHO, 2019). Essas diretrizes servem de base para a elaboração da legislação interna e específica de cada país. O *Codex* determina padrões mínimos de higiene para proteger a saúde do consumidor e assegurar práticas justas no comércio de alimentos, através da elaboração de padrões e recomendações que descrevem processos e procedimentos para o preparo seguro dos alimentos (FORSYTHE, 2013; FAO, 2019).

3.3 *Salmonella* Heidelberg

O sistema intensivo de criação de aves favorece a introdução, a instalação, a permanência e a disseminação de salmonelas não tifoides ou paratíficas, as quais podem causar doença em animais e nos seres humanos. Dessa forma, a infecção paratífica aviária tornou-se um complexo problema ao setor avícola, pois a bactéria pode ser ou não patogênica para as aves e, especialmente, muito patogênica para os seres humanos (ANDREATTI, 2020). A introdução e disseminação de *Salmonella* não tifóide em aves pode estar relacionada tanto à transmissão vertical da bactéria a partir de reprodutoras

infectadas, quanto à transmissão horizontal a partir do contato direto com lotes infectados ou com fontes ambientais, como ração ou água potável contaminadas (VOSS-RECH *et al.*, 2019). Uma característica importante e complexa da epidemiologia da *Salmonella* spp. é que indivíduos infectados podem tornar-se portadores crônicos por vários meses. Diante de situações de estresse, ocorre a reativação e a multiplicação bacteriana com uma nova excreção do agente. Além disto, os patógenos envolvidos adquirem maior resistência aos antimicrobianos e sanitizantes ao longo dos anos (FORSYTHE, 2013).

Um dos fatores que mais contribuem para a incidência de salmonelas paratíficas é o alto grau de diversidade antigênica que o gênero possui, facilitando sua adaptação a diversos hospedeiros. Soma-se a isto o fato de que animais e insetos também podem carrear o patógeno (ANDREATTI, 2020). Assim, apesar de todos os esforços e programas de controle adotados no setor, observou-se uma ascensão de outros sorovares de *Salmonella* nos últimos anos na cadeia avícola, com destaque para o sorovar *S. Heidelberg* (SOUZA *et al.*, 2019; ANDREATTI, 2020).

Salmonella frequentemente coloniza aves sem presença de sinais clínicos, e *S. Heidelberg* estabelece uma condição semelhante à microbiota comensal das aves (DEWI *et al.*, 2021). Produtos alimentícios como ovos, carne de frango e derivados continuam sendo veículos importantes para a infecção humana (SHAH *et al.*, 2017; FERRARI *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019). Diferentes estudos demonstram uma alta prevalência de *Salmonella* em carne de frango provinda do varejo nos Estados Unidos (EUA), destacando-se o sorovar *S. Heidelberg* (GURAN; MANN; ALALI, 2017; SHAH *et al.*, 2017). Segundo dados da EFSA, *S. Heidelberg* está entre os cinco principais sorotipos identificados na União Europeia, sugerindo, inclusive, que este seja incluído na lista dos cinco sorovares controlados em aves reprodutoras (KOUTSOUMANIS *et al.*, 2019). De acordo com o Sistema de Alertas Rápidos para Gêneros Alimentícios e Alimentos para Animais (*Food and Feed Safety Alerts - RASFF*), *S. Heidelberg* esteve entre os sorovares mais isolados em 2013 e 2014, bem como nos anos de 2016 e 2018 (RASFF, 2016; 2018).

No Brasil, um estudo retrospectivo desenvolvido por Hofer e colaboradores (1997) demonstra que *S. Heidelberg* já havia sido identificada em aves e produtos derivados no país entre 1962 e 1991. Recentemente, foi demonstrado que *S. Heidelberg* têm sido um dos sorovares de maior prevalência, especialmente na Região Sul do Brasil, a qual é responsável por mais de 60% da produção nacional de carne de frango. Tais dados evidenciam a disseminação de *S. Heidelberg* na região, bem como a sua resistência e manutenção no ambiente (VOSS-RECH *et al.*, 2019).

3.4 Higiene na indústria de alimentos

3.4.1 O processo de higienização

Durante o processo de fabricação de alimentos, ocorre o acúmulo de materiais indesejáveis, como restos de alimentos, substâncias químicas do processo e microrganismos (AZEVEDO; CERCA, 2012). A higienização dentro de uma indústria é um dos fatores mais importantes para assegurar a inocuidade dos alimentos produzidos e deve ser considerada como parte essencial do processo. Para isso, as empresas devem ter planos de higienização que contemplem todas as instalações, visando prevenir a contaminação dos alimentos produzidos ou que estes tenham a vida de prateleira diminuída (TONDO; BARTZ, 2012; FORSYTHE, 2013). A falta de eficiência dos procedimentos de higienização e limpeza permite a adesão de microrganismos e, muitas vezes, o desenvolvimento de biofilmes nessas superfícies, os quais se constituem em uma potencial fonte de contaminação dos alimentos (AZEVEDO; CERCA, 2012).

O termo higienização não deve ser confundido com limpeza, visto que higienização é o processo que engloba primeiro a limpeza, destinada à remoção de sujidades e, posteriormente, a desinfecção, que tem a função de reduzir o número de microrganismos sobre uma superfície inanimada (TONDO; BARTZ, 2012). A limpeza deve ser executada em intervalos regulares e frequentes ou mesmo de forma contínua para garantir consistentemente a qualidade do produto. A forma como a limpeza é realizada depende da natureza da sujidade ou da contaminação, do tipo de superfície a ser limpa, dos materiais utilizados, do grau de dureza da água e do padrão de limpeza requerido (FORSYTHE, 2013). De acordo com a Portaria 210 do MAPA, a desinfecção é a operação realizada depois de uma limpeza completa e é destinada a destruir os microrganismos patogênicos, bem como reduzir o número de microrganismos a um nível que não permita a contaminação do produto alimentício, utilizando-se agentes químicos e/ou físicos higienicamente satisfatórios (BRASIL, 1998).

Na indústria alimentícia, os procedimentos de higienização realizados após o término do processo produtivo compreendem as seguintes etapas: remoção de resíduos sólidos, pré-enxague com água quente (45°C), aplicação de detergente, enxágue com água, aplicação de sanitizantes e enxágue com água. O processo é realizado a cada 12 ou 24 horas, ao final do turno de abate, e é definido como higiene pré-operacional. Entretanto, durante as operações, em tempos de 4 horas, é realizada a higiene operacional,

que consiste em um processo rápido de higienização nos intervalos de produção e que envolve etapas de remoção de resíduos sólidos e enxágue (CONTRERAS *et al.*, 2003; ANDRADE, 2008).

3.4.2 Principais desinfetantes utilizados na indústria de alimentos

O procedimento de higienização na indústria avícola consiste fundamentalmente no uso de água quente, detergentes e sanitizantes. Ainda que os detergentes diminuam a carga bacteriana das superfícies, o objetivo principal do seu uso é a remoção de resíduos orgânicos e inorgânicos (ANDRADE, 2008). Sanitizante é um composto capaz de reduzir as contagens microbianas a níveis seguros de saúde pública e minimizar as chances de transmissão da doença entre um organismo e outro (BRASIL, 1993; TORTORA *et al.*, 2012). A sanitização, que é a última etapa do procedimento de higienização, visa reduzir a carga de microrganismos alteradores e eliminar patógenos até níveis seguros, para obter um produto de boa qualidade higiênico sanitária (ANDRADE, 2008). Para que o processo seja efetivo, deve-se estabelecer um programa com objetivos claros, definindo-se a susceptibilidade do agente patogênico, populações mistas de microrganismos, tipo de superfície, condições ambientais (umidade e temperatura) e quantidade de matéria orgânica (MORGULIS, 2005; KUANA, 2009). Já o sanitizante deve ser selecionado levando-se em conta algumas características, como aprovação pelos órgãos competentes e apresentação de amplo espectro de ação. Também deve ser estável, apresentar baixa toxicidade e corrosividade. A ação dos sanitizantes é afetada pelas características da superfície, tempo e temperatura de contato, concentração de uso, resíduos presentes nas superfícies, pH, tipo e quantidade de microrganismos contaminantes (ANDRADE, 2008; ALTERTHUM, 2015).

No Brasil, a ANVISA e o MAPA são os órgãos responsáveis pela regulamentação do uso de sanitizantes. Antes da comercialização, os dois órgãos atuam no registro e notificação dos produtos, observando critérios de qualidade para garantir eficácia e segurança. A RDC n° 14 de 2007 aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com ação antimicrobiana destinados ao uso em objetos, superfícies inanimadas e ambientes (domiciliar, industrial, hospitalar e outros estabelecimentos públicos e privados de atendimento à saúde) (BRASIL, 2007). Além disso, a IN n° 26 de 2009 do MAPA regulamenta a fabricação, controle de qualidade e comercialização de produtos antimicrobianos de uso veterinário (BRASIL, 2009).

O ácido peracético é um sanitizante comumente utilizado na indústria. É um sanitizante bactericida, esporicida e fungicida, sendo eficaz contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, fungos filamentosos, leveduras, vírus e esporos bacterianos (SOUZA, 2005). Possui algumas vantagens, como não produzir compostos tóxicos ou carcinogênicos, apresentar baixo impacto ambiental e ação contra biofilmes (SVIDZINSKI *et al.*, 2007). Contudo, é irritante para pele, libera vapores irritantes, apresenta odor forte, incompatibilidade com cobre, ferro e alumínio, além de baixa estabilidade durante estocagem (ANDRADE, 2008).

Os compostos de amônia quaternária são amplamente utilizados como antissépticos e desinfetantes. São detergentes catiônicos sintéticos com atividade antimicrobiana, sendo eficientes contra bactérias, leveduras e vírus. Os compostos de amônia quaternária são livres de odor e cor, altamente estáveis e pouco corrosivos para os metais, desde que usados nas concentrações recomendadas. Possuem ação surfactante e baixa toxicidade, aliado ao poder biocida (PAULINO, 2006). Entretanto, têm atuação limitada na presença de matéria orgânica e em superfícies com restos de sabões e detergentes aniônicos (KUANA, 2009). O mecanismo de ação desse grupo dá-se através da desnaturação e da precipitação das proteínas da membrana celular e do citoplasma bacteriano, liberando nitrogênio e potássio das células. Também agem clivando os complexos lipoprotéicos da célula bacteriana e liberando enzimas autolíticas. Geralmente, os compostos de amônia quaternária combinam-se com proteínas, gorduras e alguns fosfatos e têm alto poder de adsorção na parede celular, onde exercem ação antibacteriana (PAULINO, 2006).

O hipoclorito de sódio atua como solvente de gordura e ácidos graxos, transformando-os em sais de ácidos graxos (sabão) e glicerol (álcool), reduzindo a tensão superficial da solução remanescente. Age neutralizando aminoácidos, formando água e sal. Com a saída dos íons hidroxila, há uma redução de pH. O ácido hipocloroso, substância presente na solução de hipoclorito de sódio, quando em contato com o tecido orgânico atua como solvente, libera cloro que, combinado com o grupo amino da proteína, forma cloraminas. Ácido hipocloroso e íons hipoclorito leva a degradação de aminoácidos e hidrólise. A reação de cloraminação entre o cloro e o grupo amino (NH) forma cloraminas que interfere no metabolismo celular. Cloro ação antimicrobiana inibindo enzimas bacterianas levando a uma oxidação irreversível dos grupos grupo sulfidríla de enzimas bacterianas essenciais (ESTRELA *et al.*, 2002).

3.5 Biofilmes microbianos

Biofilmes são definidos como comunidades constituídas por células sésseis, mono ou multiespécies, envoltos em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances* - EPS). Estas estruturas geralmente estão aderidas a um substrato biótico ou abiótico, em cuja formação os microrganismos exibem diferenças fenotípicas, metabólicas, fisiológicas e genéticas (FLEMMING *et al.*, 2016; SATPATHY *et al.*, 2016). A expressão “agregado” deve-se ao fato de que a maioria das células em um biofilme está em contato com outras células, visto que apenas uma camada do biofilme tem contato direto com a superfície na qual está aderido (FLEMMING *et al.*, 2016). O biofilme não possui uma estrutura uniforme, e as espécies bacterianas, bem como vários fatores extrínsecos (temperatura, condições de fluxo, pH, presença de sais, nutrientes) desempenham um papel importante em influenciar a formação de biofilme e o grau de adesão (LEE *et al.*, 2018).

A fração de EPS, que representa cerca de 90% da composição do biofilme, corresponde a biopolímeros de origem microbiana, principalmente polissacarídeos. O EPS possui papel fundamental para a sobrevivência dos microrganismos em situações adversas, além de fornecer proteção contra ação antimicrobiana. Além disso, há uma variedade de proteínas, glicoproteínas, glicolipídeos e ácidos nucleicos na sua composição. Todas estas substâncias proporcionam estabilidade mecânica, facilitam a adesão às superfícies e formam uma rede coesa e tridimensional que imobiliza o biofilme (CORTÉS; BONILLA; SINISTERRA, 2011; AZEVEDO; COSTA, 2012; SATPATHY *et al.*, 2016).

A formação de biofilmes é uma parte integrante do ciclo celular de grande parte dos microrganismos e ocorre a partir de uma sequência de eventos (AZEVEDO; COSTA, 2012). Seis estágios simples e generalizados podem demonstrar essa formação. Inicialmente, há a adesão das células planctônicas de maneira reversível a uma superfície que proporcione o adequado crescimento (estágio I), seguido de ligação irreversível das bactérias, as quais passam a formar microcolônias na matriz de EPS (estágio II). As microcolônias expandem-se e essa confluência leva a um fenótipo mais estruturado com espaços não colonizados, iniciando o desenvolvimento da arquitetura do biofilme e a produção de moléculas de sinalização entre células (estágio III). Estes espaços não colonizados são preenchidos com bactérias e uma arquitetura firmemente madura com EPS é produzida, cobrindo toda a superfície (estágio IV) e possibilitando a visualização

tridimensional do biofilme, além da dispersão de fragmentos (estágio V). Por fim, as bactérias dispersam da estrutura sésil e retornam ao seu estado planctônico, podendo colonizar outras superfícies (estágio VI) (NADELL; DRESCHER; FOSTER, 2016; SATPATHY *et al.*, 2016). Isto é, uma vez constituídos, os biofilmes agem como pontos de contaminação constantes, liberando fragmentos ou células planctônicas dos microrganismos que podem comprometer a qualidade microbiológica de produtos (WANG *et al.*, 2016).

Considerando que os biofilmes são comunidades de microrganismos geralmente multiespécies, a comunicação entre eles é de grande importância. Bactérias em biofilmes comunicam-se através de sinalizações moleculares chamadas de *quorum-sensing* (QS) e também através de sinais elétricos (FLEMMING *et al.*, 2016). O QS é uma sinalização baseada no tamanho da população e consiste na habilidade de uma bactéria em produzir, detectar informações ou sinais e responder a outras células quando atingem a densidade crítica, ou seja, o *quorum*. É reconhecido como um mecanismo eficiente para regular a expressão de genes específicos responsáveis pelos comportamentos em comunidade (WHITEHEAD; VERRAN, 2015; FLEMMING *et al.*, 2016). Durante o QS, as bactérias fortalecem-se por aumentar sua densidade ou coletivamente produzirem fatores de virulência necessários para a sua patogenicidade (БОРОБЕЙ; БОРОНКОБА; ВИННИКОВ, 2012). Os sinais também podem induzir a secreção de quelantes de nutrientes, enzimas digestivas, adesinas de superfícies, agentes umectantes, entre outras moléculas de sinalização (NADELL; DRESCHER; FOSTER, 2016; PAPENFORT; BASSLER, 2016). As células bacterianas liberam substâncias chamadas de auto-indutores (AI). Em bactérias Gram-negativas são conhecidos três tipos de AI. As moléculas de N-acil-hemossiderina-lactona (AHLs) são consideradas a classe mais comum de AI-1 e participam principalmente do processo de comunicação intra-espécie. O AI-2 é um conjunto de moléculas de furanosil borato formado pela proteína LuxS e é considerado um sistema universal de comunicação entre as espécies. Por último, o AI-3 consiste em um sinal emitido basicamente por bactérias entéricas (PAPENFORT; BASSLER, 2016). A interação nos biofilmes também pode ser competitiva. A competição por espaço e por recursos limitados podem levar à secreção de antimicrobianos, injeção direta de toxinas nas células adjacentes e a mecanismos para deslocar ou sufocar células vizinhas. Esses compostos podem alterar a composição dos biofilmes (NADELL; DRESCHER; FOSTER, 2016).

A funcionalidade do biofilme pode ser definida como a maneira que ele opera, sendo muito dependente de fatores ambientais e microbiológicos. O principal motivo para a produção do biofilme é a defesa das células contra condições nocivas, além de também possibilitar futuras adesões em novas superfícies. Os biofilmes fornecem proteção contra o sistema imune dos hospedeiros e contra fatores físicos e predadores, além de serem uma barreira de difusão frente a diferentes compostos químicos, como antimicrobianos, biocidas e desinfetantes (FLEMMING *et al.*, 2016; GALIÉ *et al.*, 2018). Consequentemente, ocorre a ineficiência de tratamentos e de procedimentos de higienização (CHUANG *et al.*, 2013; OGLESBY-SHERROUSE *et al.*, 2014; WHITEHEAD; VERRAN, 2015; YAN; BASSLER, 2019). Além disto, biofilmes têm fundamental importância também na troca de genes entre os microrganismos, contribuindo com a resistência antimicrobiana (FLEMMING *et al.*, 2016).

3.6 Biofilmes na indústria alimentícia

As superfícies industriais desempenham grande influência na formação de biofilme, favorecendo a adesão microbiana em estruturas e equipamentos (LEE *et al.*, 2018; RAHAMAN; SADEKUZZAMAN, 2018). A maior preocupação é relacionada aos biofilmes formados em materiais que entram em contato direto com os alimentos e que são comumente encontrados na indústria alimentícia, tais como aço inoxidável, polietileno, vidro, polipropileno e borracha (ABDALLAH *et al.*, 2014; COLAGIORGI *et al.*, 2017; WEBBER *et al.*, 2019). Os locais para o desenvolvimento de biofilmes dependem do tipo de fábrica e podem incluir placas de pasteurizador, membranas de osmose reversa, mesas, luvas, carcaças, superfícies de contato, silos de armazenamento de matérias-primas e aditivos, tubulações, material de embalagem, entre outros (GALIÉ *et al.*, 2018). Os biofilmes nestes ambientes são uma grande preocupação para a saúde pública, pois podem ocasionar a contaminação cruzada e a contaminação pós-processamento dos alimentos (WANG *et al.*, 2013a). Além disso, os biofilmes formados nas superfícies metálicas das instalações de processamento podem ocasionar a corrosão dos materiais devido à produção de ácido pelas bactérias. Frequentemente estas estruturas também são responsáveis pelos bloqueios mecânicos, como entupimentos, e por interferências nos processos de transferência de calor (AZEVEDO; CERCA, 2012).

Salmonella spp. pode aderir e formar biofilmes em superfícies inertes de processamento de alimentos, na carne e em outras matrizes alimentícias (WANG *et al.*,

2013; LEE *et al.*, 2018). Além disto, é capaz de sobreviver em biofilmes formados em aço inoxidável por longos períodos, podendo ser uma fonte de contaminação aos alimentos produzidos (MORITA *et al.*, 2011). Particularmente, *S. Heidelberg* tem se mostrado um importante patógeno associado a surtos relacionados a alimentos de origem avícola e a sua capacidade de formar biofilmes está diretamente relacionada à permanência do patógeno nas estruturas das instalações (GIERALTOWSKI *et al.*, 2016; NISAR *et al.*, 2017; DEWI *et al.*, 2021). Aliado a isso, está a preocupação com a resistência deste sorovar aos programas e produtos utilizados na higienização das estruturas e dos ambientes de produção (OBE *et al.*, 2018; MELO *et al.*, 2021).

3.6.1 Superfícies de adesão

Entre os fatores que favorecem a formação de biofilmes em matadouros-frigoríficos, destacam-se as características das superfícies de contato como a rugosidade, estabilidade físico-química e a resistência à corrosão (GIAOURIS *et al.*, 2014). De acordo com a legislação brasileira, qualquer superfície que venha a ter contato com o alimento deve ser suave, impermeável, livre de rachaduras ou ranhuras, não porosa, não absorvente, não suscetível à contaminação ou não contaminante, resistente à corrosão, durável e lavável (BRASIL, 2004). Para estar de acordo com estas características, os materiais mais utilizados na indústria são o aço inoxidável, polietileno, polipropileno, policarbonato, aço-carbono, madeira, fibra de vidro, poliuretano, PVC, mármore, silicone, granito, teflon e vidro (ANDRADE, 2008).

O aço inoxidável, um dos materiais mais utilizados na indústria alimentícia, consiste em uma liga metálica composta por carbono, cromo e níquel que é resistente à corrosão causada pela maioria dos alimentos, detergentes e sanitizantes (ANDRADE, 2008). Além disso, o aço inoxidável apresenta outras vantagens como a maior dureza, ampla variedade de derivações do produto, facilidade na fabricação e baixo custo, além de resistir a altas temperaturas, ser liso, impermeável e facilmente higienizado (SCHMIDT *et al.*, 2012). No entanto, o aço inoxidável pode favorecer o acúmulo de resíduos de alimentos e de microrganismos, quando é danificado ou corroído (ANDRADE, 2008).

Os polímeros também são amplamente utilizados na indústria de alimentos, pois são capazes de prevenir a deterioração no material de embalagem devido a influências externas, como a presença de oxigênio, de luz e de microrganismos. O polietileno, um

polímero termoplástico produzido à base de petróleo, consiste em um dos polímeros de maior importância nas indústrias de processamento de carnes. Além do uso industrial e comercial, o polietileno também é empregado em superfícies domésticas para o preparo de diversos alimentos (AKELAH, 2013). Um dos principais problemas no uso do polietileno é a maior facilidade na ocorrência de contaminação cruzada, relacionada principalmente à capacidade de adesão dos microrganismos em geral (CLIVER, 2006).

3.7 Métodos alternativos para controle de biofilmes

A susceptibilidade reduzida do biofilme aos desinfetantes e aos agentes antimicrobianos torna o seu controle um desafio. Costerton *et al.* (1995) relataram que as células aderidas são 500 a 1.000 vezes mais resistentes em comparação às células planctônicas, sendo necessário avaliar novos procedimentos e compostos para o controle dos biofilmes. Com esse intuito, inúmeros estudos buscam métodos alternativos e eficazes para o controle da formação de biofilmes na indústria alimentícia. Dentre eles, pode-se destacar o uso de produtos naturais, como ácidos orgânicos, biossurfactantes, e óleos essenciais (AMRUTHA; SUNDAR; SHETTY, 2017; BOTH *et al.*, 2017; CARVALHO *et al.*, 2022), bacteriófagos (DE ORNELLAS DUTKA GARCIA *et al.*, 2018; CHEGINI *et al.*, 2020, RIZZO *et al.*, 2020), nanopartículas (LARA *et al.*, 2020, PONTIN *et al.*, 2021), água eletroquimicamente ativada (WILSMANN *et al.*, 2019), ionização e radiação ultravioleta (ANGARANO *et al.*, 2020) e a ação do ozônio (MARINO *et al.*, 2018).

3.7.1 Água eletroquimicamente ativada

A água eletroquimicamente ativada (ECAW) é uma tecnologia desenvolvida na Rússia no ano de 1974 com o intuito de tratar a água. Pesquisadores russos, que idealizaram a tecnologia, possuem aproximadamente 300 patentes para aplicação da ECAW em diferentes setores, como na agricultura, torres de resfriamento, piscinas, dermatologia e na limpeza de feridas e de instrumentos (MARAIS; BRÖZEL, 1999). No Japão, o uso da ECAW também foi reportado em 1980, sendo empregada na indústria médica e no tratamento de água (RAHMAN; KHAN; OH, 2016).

A ECAW é um biocida que atua aumentando a permeabilidade da membrana celular, levando a um extravazamento do conteúdo intracelular, e diminuindo as

desidrogenases e as atividades de redutases de nitrato (ZENG *et al.*, 2010). A oxidação pode danificar as membranas celulares dos microrganismos, afetando os processos metabólicos e ocasionando a morte da célula (LIAO; CHEN; XIAO, 2007). A ECAW é produzida a partir de água, sal e eletricidade, sendo o ácido hipocloroso (HClO) seu principal componente. O HClO é a variante química do hipoclorito de equilíbrio ácido (OCl⁻), o qual predomina em pH 6,6 a 6,8. O HClO é considerado mais reativo que o OCl⁻, embora ambos sejam fortes oxidantes (VEASEY; MURIANA, 2016). Aliado a isso, o HClO possui potencial de oxi-redução (ORP), grande quantidade de oxigênio livre (> 30 mg/L), pH baixo e outros componentes que produzem a inativação microbiana (ANDRADE *et al.*, 2008; KHALID *et al.*, 2018). O cloro é mais forte na forma de HClO e exibe um poder saneante 80 vezes maior que o OCl⁻, quando o pH da solução encontra-se entre 5,0 a 6,5. Assim, os microrganismos são inativados rapidamente pelo HClO (RAHMAN; KHAN; OH, 2016).

Para a produção da ECAW, o cloreto de sódio (NaCl) é diluído em água e armazenado em um recipiente. O equipamento recebe a solução de sal e de água potável por duas vias de acesso independentes (Figura 1). Após o início do processo de eletrólise, o NaCl se dissolve na água e se dissocia em íons carregados positivamente (Na⁺) e negativamente (Cl⁻). Simultaneamente, íons hidróxido (OH⁻) e hidrogênio (H⁺) também são formados na solução. Quando a corrente elétrica passa pela junção da água com a solução salina, a membrana no equipamento, que apresenta um elevado grau de compostos químicos que favorece a reação, transforma o eletrólito NaCl em estado ativado formando radicais livres, ácido hipocloroso, entre outros compostos a partir da modificação das estruturas iônicas (THORN *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2019a). Os íons carregados negativamente (OH⁻ e Cl⁻) movem-se em direção ao ânodo, onde os elétrons são liberados, formando-se ácido hipocloroso (HClO), íon hipoclorito (OCl⁻), ácido clorídrico (HCl), gás oxigênio (O₂) e gás cloro (Cl₂). Íons carregados positivamente (Na⁺ e H⁺) movem-se em direção ao cátodo, onde ganham elétrons, resultando na geração de hidróxido de sódio (NaOH) e hidrogênio gasoso (H₂).

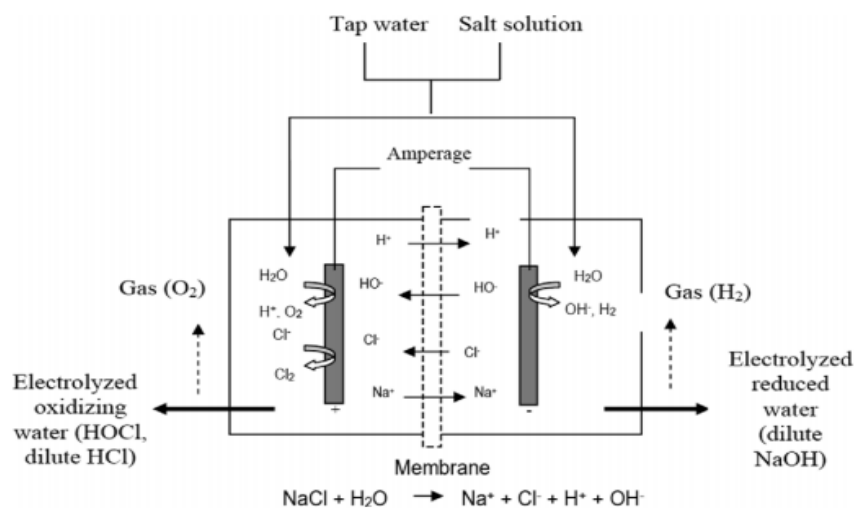


Fig. 1. Schematics of electrolyzed water generator and produced compounds.

Figura 1 - Esquema da geração da água eletroquimicamente ativada e seus compostos.

Fonte Huang Yu-Ru *et al.*, (2007)

É possível produzir soluções de ECAW acidificadas ou básicas, ajustando-se o pH da solução. A ECAW acidificada (AEOW), com pH baixo (2,3 a 2,7), alto potencial de oxi-redução (ORP > 1000 mV), alta concentração de oxigênio dissolvido e de cloro é produzida no ânodo. Já a ECAW básica, com pH mais alto (10,0 a 11,5), alta concentração de hidrogênio dissolvido e baixo ORP (~ 800 a ~ 900 mV) é produzida no cátodo e pode ser usada para remover sujeira e gordura de utensílios de cozinha, como tábuas de corte (HUANG *et al.*, 2008; THORN *et al.*, 2012). Há também uma solução levemente acidificada (SAEOW), com pH 6.2-6.5.

As características da solução pronta dependem de alguns parâmetros, como a célula eletroquímica, a condutividade em um pH baixo e o alto ORP, sendo normalmente esses os parâmetros almejados durante a fabricação da ECAW (THORN *et al.*, 2012; RAHMAN; KHAN; OH, 2016). O efeito antimicrobiano da SAEOW (pH 6.2-6.5 e 10 ppm) e da AEOW (pH 2.5 e 50 ppm) na carne de peito de frango fresco foi avaliado frente a *S. Typhimurium* (ATCC 14028) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115). As carcaças foram inoculadas e após tratadas, sob imersão, durante 10 minutos, apresentando um aumento de vida de prateleira e reduções de 1.5 a 2.3 log₁₀ UFC/g. Não houve diferença significativa entre a eficácia dos tratamentos entre a ECAW ácida e levemente ácida, demonstrando que a ação possa estar mais relacionada ao cloro do que ao pH e ao ORP (RAHMAN *et al.*, 2012a).

O ORP é definido como a capacidade de ganhar ou perder elétrons. O valor ORP positivo indica receber elétrons, enquanto os valores negativos designam doar elétrons. Os sequestradores de elétrons da ECAW atraem elétrons da membrana celular bacteriana, tornando-a instável (JAY, 2005). Liao *et al.* (2007) demonstraram que o ORP age danificando as membranas bacterianas, levando à inativação dos microrganismos. As bactérias aeróbias e anaeróbicas podem crescer na faixa de ORP de +200 a + 800mV e -700 a + 200mV, respectivamente. Devido à mudança no fluxo de elétrons na célula, a ECA com ORP mais alto (> 1000mV) causa modificações nos fluxos metabólicos e na produção de adenosina trifosfato (ATP). O baixo pH (2,3 a 2,7) pode sensibilizar a membrana externa das células bacterianas, permitindo que o ácido hipocloroso (HClO) entre na célula. Além da ação oxidante que sequestra elétrons dos compostos estruturais dos microrganismos, acredita-se que um ambiente de alta osmolaridade da ECAW desequilibre as concentrações internas dos organismos em relação à solução, assim danificando estruturas da membrana celular. Isso ocasionará um aumento na porosidade da membrana, permitindo a entrada de oxidantes no citoplasma bacteriano, danificando proteínas, ácidos nucleicos e lipídios, levando à morte celular (LIAO; CHEN; XIAO, 2007; THORN *et al.*, 2012). O efeito da ECAW nas células bacterianas pode ser demonstrado através da análise por microscopia eletrônica de varredura e consequente visualização da parede celular enrugada com poros arredondados (OSAFUNE; EHARA; ITO, 2006).

A lista de ingredientes seguros e adequados para uso na indústria de alimentos, de acordo com FSIS-USDA, inclui o HClO gerado eletroliticamente (USDA, 2017). Esse pode ser utilizado no *chiller* na concentração de 50 ppm nos EUA, e seu uso em indústrias produtoras de bebidas, lavagem de verduras e frutas vem sendo estimulado (HUANG *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2019a). A ECAW é um composto classificado como biodegradável e de baixa citotoxicidade. O desenvolvimento de cepas resistentes ainda não foi relatado (HUANG *et al.*, 2008; AL-HOLY; RASCO, 2015). A utilização da ECAW é vista como uma oportunidade de reduzir o uso e os custos com compostos químicos, uma vez que os insumos utilizados para sua produção possuem baixo custo e são abundantes. Além disto, diminui-se a necessidade de estoque de produtos ou reagentes e de amplos locais de armazenamento, pois a ECAW pode ser produzida no local pelo equipamento gerador adquirido pela indústria (LIAO; CHEN; XIAO, 2007; HUANG *et al.*, 2008; KHALID *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019).

3.8 Ensaios de polarização potencioestática

A corrosão pode ser definida basicamente como a deterioração de um metal ou liga, a partir de sua superfície, pelo meio no qual está inserido. O processo envolve reações de oxidação e de redução (redox) que convertem o metal ou componente metálico em óxido, hidróxido ou sal (SILVA *et al.*, 2015). Todos os metais estruturais possuem algum grau de corrosão em ambientes naturais (CANO; LAFUENTE; BASTIDAS, 2010; SILVA *et al.*, 2015). A corrosão metálica é a transformação de um material metálico ou liga metálica pela sua interação química ou eletroquímica em um determinado meio de exposição, resultando na formação de produtos de corrosão e na liberação de energia (AMBROZIN; KURI; MONTEIRO, 2009). O processo de corrosão eletroquímica é a mais frequente na natureza, envolvendo necessariamente a presença de água e a transferência de elétrons. Esse processo espontâneo ocorre devido à diferença de potencial químico entre o metal e o meio, envolvendo a reação desses materiais com substâncias não-metálicas presentes no meio (AMBROZIN; KURI; MONTEIRO, 2009; CANO; LAFUENTE; BASTIDAS, 2010). A rápida corrosão pode ser desencadeada por diversos fatores, como umidade, velocidade ou acidez da água, movimento do metal, aumento da temperatura, aeração, presença de certas bactérias, entre outros (CANO; LAFUENTE; BASTIDAS, 2010; SILVA *et al.*, 2015).

Muitos dispositivos e equipamentos existentes na indústria alimentícia são comumente produzidos a partir de vários metais (WANG *et al.*, 2019b). A corrosão pode prejudicar a precisão do equipamento e aumentar diretamente os custos operacionais. Além disso, a corrosão que ocorre nas superfícies em contato com alimentos pode formar rachaduras, que favorecem a sobrevivência de bactérias na higienização e possibilita a contaminação cruzada (WANG *et al.*, 2014). A corrosão de metais causada pela aplicação da ECAW é uma preocupação potencial, devido à existência de fatores indutores de corrosão, como baixo pH, Cl^- , ClO^- e outros agentes oxidantes (HAN *et al.*, 2018). A avaliação da corrosividade da ECAW em metais comumente usados em matadouros de animais é, portanto, crítica e pode ajudar a evitar perdas desnecessárias. Alguns estudos indicam que a ECAW não danifica o aço inoxidável, sendo sugerida como um possível desinfetante para a indústria alimentícia (AYEBAH; HUNG; FRANK, 2005; HUANG *et al.*, 2008).

Existem diferentes ensaios que podem ser realizados para avaliação da corrosão, mas todos visam prever como a corrosão acontece nas condições reais de operação. Ensaio eletroquímico em corrente contínua são realizados para análise dos potenciais dos eletrodos (método galvanostático) ou para análise da corrente devido à aplicação de potencial (método potencioestático), sendo este o mais comum (EBRAHIMI *et al.*, 2012). As representações gráficas dos ensaios eletroquímicos em corrente contínua chamam-se curvas de polarização. A polarização é o fenômeno que gera a alteração do potencial de equilíbrio de um eletrodo, quando há a passagem de uma corrente elétrica por ele (EBRAHIMI *et al.*, 2012). O ensaio de polarização potencioestática visa demonstrar o comportamento eletroquímico da amostra, quando submetida a potenciais constantes com variação contínua do potencial de eletrodo, modificando-se ponto a ponto e se medindo a corrente correspondente após sua estabilização. Após o ensaio, uma das análises que pode ser realizada é a avaliação da densidade de corrente de corrosão através da curva de aproximação da equação de *Butler-Volmer* (CANO; LAFUENTE; BASTIDAS, 2010; LIU *et al.*, 2014; FLEXER *et al.*, 2015).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, M. et al. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. **Archives of Microbiology**, v. 196, n. 7, p. 453–472, 2014.
- ABPA- **Relatório Anual 2021**. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <http://abpa-br.org/mercados/#relatorios>. Acesso em dez. de 2020.
- AFARI, G. K.; HUNG, Y. C. A meta-analysis on the effectiveness of electrolyzed water treatments in reducing foodborne pathogens on different foods. **Food Control**, v. 93, n. June, p. 150–164, 2018.
- AKBAS, M. Y.; CAG, S. Use of organic acids for prevention and removal of *Bacillus subtilis* biofilms on food contact surfaces. **Food Science Technology**. Int. 22, 587–597, 2016
- AKBULUT, M. B. In vitro antimicrobial activity of different electrochemically-activated solutions on enterococcus faecalis. **European Oral Research** v. 53, n. 1, p. 44–50, 2019.
- AKELAH, A. **Polymers in Food Processing Industries**. A Functionalized Polymeric Materials in Agriculture and the Food Industry. USA: Springer. 2013. Cap. 4, pp 195-248
- AL-HOLY, M. A.; RASCO, B. A. The bactericidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157 : H7 , *Salmonella* Typhimurium , and *Listeria monocytogenes* on raw fish , chicken and beef surfaces. **Food Control**, v. 54, p. 317–321, 2015.
- ALTERTHUM, F. Controle dos micro-organismos/Origem e natureza química dos principais agentes antibacterianos/Mecanismos de ação dos antibacterianos e mecanismos de resistência. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, p. 57-86, 2015.
- AMBROZIN, A. R. P.; KURI, S. E.; MONTEIRO, M. R. Corrosão metálica associada ao uso de combustíveis minerais e biocombustíveis. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1910–1916, 2009.
- AMRUTHA, B.; SUNDAR, K.; SHETTY, P. H. Microbial Pathogenesis Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 156–162, 2017.
- ANDRADE N.J. 2008. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle de adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008.
- ANDREATTI, R.L. *et al.* **Doença das aves**. São Paulo: Facta, 2020.
- ANGARANO, V. *et al.* Food and Bioproducts Processing The potential of violet , blue , green and red light for the inactivation of *P. fluorescens* as planktonic cells , individual cells on a surface and biofilms. **Food and Bioproducts Processing**, v. 124, p. 184–195, 2020.
- AYEBAH, B.; HUNG, Y. C.; FRANK, J. F. Enhancing the bactericidal effect of electrolyzed water on *Listeria monocytogenes* biofilms formed on stainless steel. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1375–1380, 2005.

APHA, **American Public Health Association**. 2014. Disponível em : <<http://www.apha.org/>>. Acessado em maio de 2020.

ARAUJO, P. C. O. *et al.* Effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide on acute and subchronic animal models of inflammatory pain: Behavioral, biochemical and molecular insights. **Chemico-Biological Interactions**, v. 317, n. September 2019, 2020.

AZEVEDO N.F & CERCA N. **Biofilmes na Saúde, no Ambiente, na Indústria**. Porto,Portugal: Publindústria Edições Técnicas, pp 396, 2012.

BARKER, J.; NAEENI, M.; BLOOMFIELD, S. F. The effects of cleaning and disinfection in reducing *Salmonella* contamination in a laboratory model kitchen. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, n. 6, p. 1351–1360, 2003.

BESSI, H. *et al.* Microbial reduction and quality of stored date fruits treated by electrolyzed water. **Journal of Food Quality**. v. 37, p. 42–49, 2014.

BORGES, K. A. *et al.* Biofilm formation capacity of *Salmonella* serotypes at different temperature conditions. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 71–76, 2018.

BORSOI, A. *et al.* Most probable number of *Salmonella* isolated from refrigerated broiler carcasses. **Ciencia Rural**, v. 40, n. 11, p. 2338–2342, 2010.

BOTH, J. *et al.* Antimicrobial activity of free and liposome-encapsulated thymol and carvacrol against *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* adhered to stainless steel. **International Journal of Food Microbiology**, v. 252, n. April, p. 18–23, 2017.

BYUN, K. H. *et al.* Efficacy of chlorine-based disinfectants (sodium hypochlorite and chlorine dioxide) on *Salmonella* Enteritidis planktonic cells, biofilms on food contact surfaces and chicken skin. **Food Control**, v. 123, n. September 2020, p. 107838, 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 101, de 17 de agosto de 1993. Métodos de análise microbiológica para alimentos. **Diário Oficial da União**, DF, 17 de agosto de 1993, Seção 1, p. 11937.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria SDA - 126, de 03/11/1995. Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (*S. Enteritidis*, *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* e *S. Typhimurium*). **Diário Oficial da União**, DF, 03 de novembro de 1995, Seção I – pag. 17694 e 17698.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº210, de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial da União**, 5 de março de 1999, seção 1, p. 17.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº70, de 06 de outubro de 2003. Aprova o Programa de redução de patógenos - monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus. **Diário Oficial da União**, DF, 10 de outubro de 2003b, Seção 1, p. 226.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. **Aprovação dos Produtos Antimicrobianos**. Disponível em: <

<http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/?inheritRedirect=true#/visualizar/27931> > Acesso em: out. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 26. Regulamento Técnico para a Fabricação, o Controle de Qualidade, a Comercialização e o Emprego de Produtos Antimicrobianos de Uso Veterinário. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 jul. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. **Dados epidemiológicos– DTA** – período de 2000 a 2017. 2018. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-SurtosDTA-2018.pdf> >. Acesso em 02 de fevereiro 2020.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. 2019. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-fevereirode2019.pdf>> Acesso em: 09 mai. 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60 - Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Salmonella (Salmonelose)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella-salmonelose/salmonella-salmonelose> > Acesso em fevereiro 2022.

BRENNER, F.W.; VILLAR, R.G.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.; SWAMINATHAN, B. *Salmonella* nomenclature. **Journal of Clinical Microbiology**, Georgia, v.38, n.7, 2000. p.2465-2467

CANO, E.; LAFUENTE, D.; BASTIDAS, D. M. Use of EIS for the evaluation of the protective properties of coatings for metallic cultural heritage: A review. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 14, n. 3, p. 381–391, 2010.

CARVALHO, D. et al. Antibiofilm activity of the biosurfactant and organic acids against foodborne pathogens at different temperatures, times of contact, and concentrations. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 0123456789, 2022.

CDC Centers for Disease Control and Prevention. 2016. **National enteric disease surveillance: salmonella annual report**. Atlanta, GA. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/2016-Salmonella-report-508.pdf> Acessado em: janeiro de 2020.

CDC Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella*. 2019. Disponível em : <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>. Acesso em janeiro de 2022.

CDC Centers for Disease Control and Prevention. *Salmonella*. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/>. Acesso em março de 2022.

CHEGINI, Z. et al. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms : a review. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, p. 1–17, 2020.

CHENG, X. et al. Bactericidal effect of strong acid electrolyzed water against flow *Enterococcus faecalis* Biofilms. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 7, p. 1120–1125,

2016.

CHUANG, C. *et al.* Inactivation efficiency to *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* bacterial aerosols of spraying neutral electrolyzed water **Journal of the Air & Waste Management Association**. v. 2247, n. November 2017, 2013.

CLIVER, D. O. Cutting Boards in. p. 538–542, 2006.

COLAGIORGI, A. *et al.* *Listeria monocytogenes* Biofilms in the wonderland of food industry. **Pathogens**, v. 6, n. 3, 2017.

CONTRERAS, C. J.; BROMBERG, R.; CIPOLLI, K. M. V. A. B; MIYAGUSKU, L. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 1. ed., 210 p., 2003.

COUGHLAN, L. M. *et al.* New weapons to fight old enemies: Novel strategies for the (bio)control of bacterial biofilms in the food industry. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. OCT, p. 1–21, 2016.

COSTERTON, J.W. *et al.* Microbial biofilmes. **Annual Review of Microbiology**. v.49. p.711-745, 1995.

CRAVEIRO, S. *et al.* Original article *Aeromonas* biofilm on stainless steel : efficiency of commonly used disinfectants. **International Journal of Food Science and Technology**. p. 851–856, 2015.

DANTAS, S. T. A. *et al.* Cross-Contamination and Biofilm Formation by *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis on Various Cutting Boards. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 15, n. 2, p. 81–85, 2018.

DANYLUK, M. D. *et al.* Reduction of *Escherichia coli* , as a surrogate for *Salmonella spp* ., on the surface of grapefruit during various packingline processes. **Journal Of Food Microbiology**, v. 78, n. June 2018, p. 188–193, 2019.

DE ORNELLAS DUTKA GARCIA, K. C. *et al.* Bacteriophage use to control *Salmonella* biofilm on surfaces present in chicken slaughterhouses. **Poultry Science**, v. 96, n. 9, p. 3392–3398, 2018.

DEWI, G. *et al.* Effect of lemongrass essential oil against multidrug-resistant *Salmonella* Heidelberg and its attachment to chicken skin and meat. **Poultry Science**, v. 100, n. 7, p. 101116, 2021.

DUGUID, J. P.; ANDERSON, E. S.; CAMPBELL, I. Fimbriae and adhesive properties in *Salmonella*. **The Journal of pathology and bacteriology**, v. 92, n. 1, p. 107–138, 1966.

DUONG, H.; NGUYEN, N.; YUK, H. Changes in resistance of *Salmonella* Typhimurium biofilms formed under various conditions to industrial sanitizers. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 236–240, 2013.

DUTIL, L. *et al.* Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans , Canada. **Emerging Infectious Diseases** v. 16, n. 1, 2010.

EBRAHIMI, N. *et al.* A comparative study of critical pitting temperature (CPT) of stainless steels by electrochemical impedance spectroscopy (EIS), potentiodynamic and

potentiostatic techniques. **Corrosion Science**, v. 59, p. 96–102, 2012.

EFSA. *Salmonella* the most common cause of foodborne outbreaks in the European Union. 2019. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/news/salmonella-mostcommon-cause-foodborne-outbreaks-european-union>. Acesso em: novembro de 2021.

EFSA. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. 2021. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2021.6406>. Acesso em: novembro de 2021.

ELEXSON, N. *et al.* Effect of detergents as antibacterial agents on biofilm of antibiotics-resistant *Vibrio parahaemolyticus* isolates. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 378–385, 2014.

EMERY, B.D. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata frente a isolados de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Heidelberg de origem avícola. **Tese** (Doutorado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2021.

ESPERANZA CORTÉS, M.; CONSUEGRA BONILLA, J.; DARIO SINISTERRA, R. Biofilm formation, control and novel strategies for eradication. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, v. 2, n. January 2011, p. 896–905, 2011.

European Communities (2016) The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2016.

European Communities (2018) The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2018.

FANG, Y. *et al.* A study of the efficacy of bacterial biofilm cleanout for gastrointestinal endoscopes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 8, p. 1019–1024, 2010.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. About Codex Alimentarius. 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-whocodexalimentarius/about-codex/en/> Acesso em: janeiro de 2020.

FDA- Food and Drugs Administration. Department of Health and Human Services, Part 178 Indirect Food Additives: Adjuvants, Producers AIDS and Sanitizers. **Code of Federal Regulation**. Title 21, v.3. 2012.

FERRARI, R. G. *et al.* Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, n. May, 2019.

FLEMMING, H. C. *et al.* Biofilms: An emergent form of bacterial life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 563–575, 2016.

FLEXER, V. *et al.* A New Strategy for Corrosion Inhibition Coatings for Lead Heritage Metal Objects. **Electrochimica Acta**, v. 179, p. 441–451, 2015.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre, Brazil: Artmed, p.410; 2013.

GALIÉ, S. *et al.* Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. MAY, p. 1–18, 2018.

- GAMBLE, G. R. *et al.* Effect of simulated sanitizer carryover on recovery of *Salmonella* from broiler carcass rinsates. **Journal of Food Protection**, v. 79, n. 5, p. 710–714, 2016.
- GEHLEN, S.S. Dinâmica de formação de biofilmes multiespécies por *Salmonella* Enteritidis, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* e efeitos de procedimentos de higienização. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.
- GIAOURIS, E. *et al.* Attachment and bio film formation by foodborne bacteria in meat processing environments : Causes , implications , role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. **MESC**, v. 97, n. 3, p. 298–309, 2014.
- GIERALTOWSKI, L. *et al.* National outbreak of multidrug resistant *Salmonella* Heidelberg infections linked to a single poultry company. **PLoS ONE**, v. 11, n. 9, p. 1–13, 2016.
- GÓMEZ, N. C *et al.* A. Effect of enterocin AS-48 in combination with biocides on planktonic and sessile *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**. v.30, p.51–58, 2012.
- GONZÁLEZ-MACHADO, C. *et al.* Visualization and quantification of the cellular and extracellular components of *Salmonella agona* biofilms at different stages of development. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, 2018.
- GOSLING, R. J. *et al.* E fficacy of disinfectants and detergents intended for a pig farm environment where *Salmonella* is present. **Veterinary Microbiology**, v. 204, n. December 2016, p. 46–53, 2017.
- GRAHAM, L. E. *et al.* Use of probiotics as an alternative to formaldehyde fumigation in commercial broiler chicken hatch cabinets. **Journal Name Poultry Science**, v. 27, n. 3, p. 371–379, 2018.
- GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. **WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella**. France: Institute Pasteur, 2007.
- GURAN, H. S.; MANN, D.; ALALI, W. Q. *Salmonella* prevalence associated with chicken parts with and without skin from retail establishments in Atlanta metropolitan area, Georgia. **Food Control**, v. 73, p. 462–467, 2017.
- HAN, Q. *et al.* Removal of Foodborne Pathogen Biofilms by Acidic Electrolyzed Water. **Frontiers in Microbiology**. v. 8, n. June, p. 1–12, 2017.
- HAO, X. X. *et al.* Application of slightly acidic electrolyzed water for inactivating microbes in a layer breeding house. **Poultry Science**. p. 2560–2566, 2013.
- HERNÁNDEZ-PIMENTEL, V. M. *et al.* Effect of neutral electrolyzed water as antimicrobial intervention treatment of chicken meat and on trihalomethanes formation. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 29, n. 3, p. 622–635, 2020.
- HUANG, Y. R. *et al.* Application of electrolyzed water in the food industry. **Food Control**, v. 19, n. 4, p. 329–345, 2008.
- IGNATOV, I. *et al.* Preparation of Electrochemically Activated Water Solutions (

Catholyte / Anolyte) and Studying Their Physical-Chemical Properties. **Journal of Medicine, Physiology and Biophysics**. v. 11, p. 1–22, 2015.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S. *et al.* Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 165, n. 7, p. 526–530, 2014.

JAPANESE INDUSTRIAL STANDARD. **Test for Antimicrobial Activity of Plastics**. (JIS) Z 2801, 2000.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JEANETTE BEBER DE SOUZA. Comparison between sodium hipoclorite and peracetic acid for *E. coli*, coliphages and *C. perfringens* inactivation of high organic matter concentration water. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**. p. 111–117, 2005.

JONG, H. K. DE *et al.* Host – Pathogen Interaction in Invasive Salmonellosis. **PLOS Pathogens**. v. 8, n. 10, p. 1–9, 2012.

JOSEPH, B. *et al.* Biofilm formation by *Salmonella spp.* On food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, n. 3, p. 367–372, 2001.

KHALID, N. I. *et al.* Electrolyzed water as a green cleaner: chemical and physical characterization at different electrolysing parameters. **Food Research**, v. 2, n. 6, p. 512–519, 2018.

KHATOON, Z. *et al.* Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, n. December, p. e01067, 2018.

KIM, W.; KIM, S.; KANG, D. Thermal and non-thermal treatment effects on *Staphylococcus aureus* biofilms formed at different temperatures and maturation periods. **Food Research International** v. 137, n. June, p. 1–8, 2020.

KOUTSOUMANIS, K. *et al.* *Salmonella* control in poultry flocks and its public health impact. **EFSA Journal**, v. 17, n. 2, 2019.

KUANA, S. L. Limpeza e desinfecção de instalações avícolas. In: JÚNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**. Campinas/SP: FACTA, 2 ed., p. 21-38, 2009.

LAJHAR, S. A.; BROWNIE, J.; BARLOW, R. Correction: Characterization of biofilm-forming capacity and resistance to sanitizers of a range of *E. coli* O26 pathotypes from clinical cases and cattle in Australia (BMC Microbiology (2018) 18 (41) DOI: 10.1186/s12866-018-1182-z). **BMC Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1–15, 2018.

LARA, H. H. *et al.* Inhibition of *Candida auris* Biofilm Formation on Medical and Environmental Surfaces by Silver Nanoparticles. **ACS Applied Materials & Interfaces**. v.12, 21183–21191, 2020.

LEE, K. *et al.* Viability of *Salmonella* Typhimurium biofilms on major food-contact surfaces and eggshell treated during 35 days with and without water storage at room temperature Bacterial Strains and Growth Conditions. **Poultry Science**, v. 99, n. 9, p. 4558–4565, 2018.

- LI, Y. *et al.* Acidic electrolyzed water more effectively breaks down mature *Vibrio parahaemolyticus* biofilm than DNase I. **Food Control**, v. 117, n. April, p. 107312, 2020.
- LIAO, L. B.; CHEN, W. M.; XIAO, X. M. The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 4, p. 1326–1332, 2007.
- LIBBY, S.J.; HALSEY, T.A.; ALTIER, C., POTTER, J.; GYLES, C.L. *Salmonella*. In: GYLES, C.L.; PRESCOTT, J.F. SONGER, J.G.; THOEN, C.O. (Ed.). **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**. 3.ed. Blackwell Publishing, 2008. p.143-167
- LIU, Y. *et al.* A electro-deposition process for fabrication of biomimetic super-hydrophobic surface and its corrosion resistance on magnesium alloy. **Electrochimica Acta**, v. 125, p. 395–403, 2014.
- LUCCA, V. *et al.* Influence of the norepinephrine and medium acidification in the growth and adhesion of *Salmonella* Heidelberg isolated from poultry. **Microbial Pathogenesis**, v. 138, n. October 2019, p. 103799, 2020.
- LUCIANO, C. *et al.* American Journal of Infection Control Evaluation of the ability of different detergents and disinfectants to remove and kill organisms in traditional biofilm. **AJIC: American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 11, p. e243–e249, 2016.
- LUO, K.; OH, D. Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh-cut bell pepper treated with slightly acidic electrolyzed water combined with ultrasound and mild heat. **Food Microbiology**, v. 53, p. 165–171, 2016.
- MACARI, M.; *et al.* **Produção de Frangos de Corte**. 2º edição, São Paulo: FACTA, 2014, p.565
- MARAIS, J. T.; BRÖZEL, V. S. Electro-chemically activated water in dental unit water lines. **British Dental Journal**.v. 187, n. 3, p. 154–158, 1999.
- MARIN, C.; HERNANDIZ, A.; LAINEZ, M. Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants. **Poultry Science**, v. 88, n. 2, p. 424–431, 2009.
- MARINO, M. *et al.* Inactivation of Foodborne Bacteria Biofilms by Aqueous and Gaseous Ozone. **Frontiers in Microbiology**. v. 9, n. August, p. 1–12, 2018.
- MASSE, L.; KENNEDY, K. J.; CHOU, S. Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatments for fat particles in slaughterhouse wastewater. **Bioresource Technology**. v. 77, 2001.
- MELO, R. T. *et al.* Molecular Characterization and Survive Abilities of *Salmonella* Heidelberg Strains of Poultry Origin in Brazil. **Frontiers in Microbiology**. v. 12, n. June, 2021.
- MEMAR, M. Y. *et al.* Antimicrobial use of reactive oxygen therapy : current insights. **Infection and Drug Resistance**. p. 567–576, 2018.
- MERINO, L. *et al.* Biofilm formation by *Salmonella spp.* in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies. **Food Research International**, v. 119, n.

November 2017, p. 530–540, 2019.

MILLES, A. A. L. & MISRA, S. S. The estimation of the bacterial power of the blood. **Journal of Hygiene**, v. 38, p. 732-749, 1938.

MOORMAN, E. *et al.* Efficacy of Neutral Electrolyzed Water for Inactivation of Human Norovirus. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 83, 2017.

MORAES, J. O. *et al.* Predicting adhesion and biofilm formation boundaries on stainless steel surfaces by five *Salmonella enterica* strains belonging to different serovars as a function of pH, temperature and NaCl concentration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 281, n. August 2017, p. 90–100, 2018.

MØRETRØ, T. *et al.* Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. **Journal of Applied Microbiology**. v. 106, p. 1005–1012, 2009.

MORGULIS, M. S. F. A.; SPINOSA, H. S. Antimicrobianos: Desinfetantes. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H. S., GORNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. 1 ed., São Paulo/SP: Roca, 2005, p. 105-113.

MORITA, Y. *et al.* Survival of biofilm-forming salmonella on stainless steel bolt threads under dry conditions. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, v. 52, n. 5, p. 299–303, 2011.

NADELL, C. D.; DRESCHER, K.; FOSTER, K. R. Spatial structure, cooperation and competition in biofilms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 589–600, 2016.

NAHAR, S. Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention Approaches in the Food Industry. **Institute of Food Technologists**, 2018.

NAKAO, J. H. *et al.* Unusually high illness severity and short incubation periods in two foodborne outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections with potential coincident *Staphylococcus aureus* intoxication. p. 19–27, 2018.

NISAR, M. *et al.* Genotypic relatedness and antimicrobial resistance of *Salmonella* Heidelberg isolated from chickens and turkeys in the midwestern United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 12, 21183–2119, 2017.

NOYCE, J. O.; MICHELS, H.; KEEVIL, C. W. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. **Journal of Hospital Infection**, v. 63, n. 3, p. 289–297, 2006.

OBE, T. *et al.* Homologous stress adaptation , antibiotic resistance , and biofilm forming ability of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg ATCC8326 on different food-contact surfaces following exposure to sublethal chlorine. **Poultry Science**, v. 97, n. 3, p. 951–961, 2018.

OGLESBY-SHERROUSE, A. G. *et al.* The complex interplay of iron, biofilm formation, and mucoidy affecting antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. **Pathogens and Disease**, v. 70, n. 3, p. 307–320, 2014.

OKANDA, T. *et al.* Slightly acidic electrolyzed water disrupts biofilms and effectively disinfects *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, n. 6, p. 452–457, 2019.

OLIVEIRA, K. *et al.* Adhesion of *Salmonella* Enteritidis to stainless steel surfaces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 318–323, 2007.

- OSAFUNE, T.; EHARA, T.; ITO, T. Electron microscopic studies on bactericidal effects of electrolyzed acidic water on bacteria derived from kendo protective equipment. **Environmental Health and Preventive Medicine**, v. 11, n. 4, p. 206–214, 2006.
- PANG, X. *et al.* Biofilm formation of *Listeria monocytogenes* and its resistance to quaternary ammonium compounds in a simulated salmon processing environment. **Food Control**, v. 98, n. September 2018, p. 200–208, 2019.
- PAPENFORT, K.; BASSLER, B. L. *Quorum sensing* signal-response systems in Gram-negative bacteria. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 9, p. 576–588, 2016.
- PAULINO, C. A. Antissépticos e desinfetantes. In: SPINOSA, H.; GORNIK, S.; BERNARDI, M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**, 4 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, p. 441-447.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. *et al.* Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 19, n. 3, p. 131–144, 2008.
- PITTS, B. *et al.* A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. **Journal of Microbiological Methods**. v. 54, p.269–276, 2003.
- PRESTES, S.; NASCIMENTO, M. S.; HERTWIG, A. M. VON. Biofilm formation and resistance to sanitizers by *Salmonella spp.* Isolated from the peanut supply chain. **Food Research International**. v. 152, n. August 2021, 2022.
- RAHAMAN, F.; SADEKUZZAMAN, M. Effects of NaCl , glucose , and their combinations on bio fi lm formation on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) surfaces by **Vibrio parahaemolyticus**. **Food Control**, v. 89, p. 203–209, 2018.
- RAHMAN, S.; KHAN, I.; OH, D. H. Electrolyzed Water as a Novel Sanitizer in the Food Industry: Current Trends and Future Perspectives. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 471–490, 2016.
- RAHMAN, S. M. E. *et al.* Stability of low concentration electrolyzed water and its sanitization potential against foodborne pathogens. **Journal of Food Engineering**, v. 113, n. 4, p. 548–553, 2012a.
- RAHMAN, S. M. E. *et al.* Effects of slightly acidic low concentration electrolyzed water on microbiological, physicochemical, and sensory quality of fresh chicken breast meat. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 1, 2012b.
- REGALADO, C. *et al.* Evaluation of electrolyzed water as cleaning and disinfection agent on stainless steel as a model surface in the dairy industry. **Food Control**. v. 60, p. 320–328, 2016.
- RODRIGUES, L. B. *et al.* Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 225, 2018.
- RYAN, M. P.; O'DWYER, J.; ADLEY, C. C. Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.
- SATPATHY, S. *et al.* Review on bacterial biofilm: An universal cause of

- contamination. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 7, p. 56–66, 2016.
- SCHMIDT, R. H. *et al.* Characteristics of Food Contact Surface Materials : Stainless Steel. **Food Protection Trends**. v. 32, n. 10, p. 574–584, 2012.
- SHAH, D. H. *et al.* Microbiology and food safety: Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. **Poultry Science**, v. 96, n. 3, p. 687–702, 2017.
- SILVA, M. V. F. *et al.* Corrosão do aço-carbono: Uma abordagem do cotidiano no ensino de química. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 293–296, 2015.
- SINDE, E.; BLOOMFIELD, 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 Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 439–447, 2000.
- SINGH, A. K. *et al.* Standardization and Classification of In vitro Biofilm Formation by Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Global Infectious Diseases**. p. 93–101, 2017.
- SIPAHI, H. *et al.* In vitro biocompatibility study approaches to evaluate the safety profile of electrolyzed water for skin and eye. **Human and Experimental Toxicology**. v. 38, 2019.
- SONI, K. A. *et al.* Inhibition and Inactivation of *Salmonella* Typhimurium Biofilms from Polystyrene and Stainless Steel Surfaces by Essential Oils and Phenolic Constituent Carvacrol. **Journal of Food Protection**. v. 76, n. 2, p. 205–212, 2013.
- SOUZA, M. N. *et al.* Molecular detection of *Salmonella* serovars Enteritidis, Heidelberg and Typhimurium directly from pre-enriched poultry samples. **British Poultry Science**, v. 60, n. 4, p. 388–394, 2019.
- STIEFEL, P. *et al.* Is biofilm removal properly assessed ? Comparison of different quantification methods in a 96-well plate system. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 4135–4145, 2016.
- SUN, J. *et al.* Efficacy of acidic and basic electrolyzed water in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilm. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 454, n. 17, p. 448–454, 2012.
- SVIDZINSKI, A. E. *et al.* Eficiência do ácido peracético no controle de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente. **Ciência, Cuidado e Saúde**. v. 6, n. 3, p. 312–318, 2007.
- SWENBERG, J. A. *et al.* NIH Public Access. v. 41, n. 2, p. 181–189, 2014.
- TAGG, K. A. *et al.* Novel trimethoprim resistance gene dfrA34 identified in *Salmonella* Heidelberg in the USA. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 74, 2019, 38–41, 2019.
- TAKEDA, Y. *et al.* Biochemical and Biophysical Research Communications Acidic electrolyzed water potently inactivates SARS-CoV-2 depending on the amount of free available chlorine contacting with the virus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 530, n. 1, p. 1–3, 2020.
- TANG, W. *et al.* Disinfection Effect and Its Mechanism of Electrolyzed Oxidizing Water on Spores of *Bacillus subtilis* var . *niger*. **Food Science and Biotechnology**. v.

20, n. 4, p. 889–895, 2011.

TENZIN, S. *et al.* Decontamination of aerosolised bacteria from a pig farm environment using a pH neutral electrochemically activated solution (Ecas4 anolyte). **PLoS ONE**, v. 14, n. 9, p. 1–15, 2019.

THORN, R. M. S. *et al.* Electrochemically activated solutions: Evidence for antimicrobial efficacy and applications in healthcare environments. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 31, n. 5, p. 641–653, 2012.

TONDO, E. C. *et al.* Adhesion and biocides inactivation of *Salmonella* on stainless steel and polyethylene. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1027–1037, 2010.

TONDO E.C & BARTZ S. **Microbiologia e Sistemas de Gestão da Segurança de Alimentos**. Porto Alegre: Sulina, 263p., 2012.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10 ed. São Paulo: Artmed, 2012; p. 933.

USDA-FSIS. **Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg products**. 2017. Directive 7120.1 Rev. 42. Disponível em: <<https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bab10e09-aefa-483b-8be8-809a1f051d4c/7120.1.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em setembro de 2020.

USDA-FSIS. **Safe and suitable ingredients**. 2021. Disponível em: <https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-09/7120.1_table_2.pdf>. Acesso em setembro de 2020.

VAN HOUDT, R.; MICHIELS, C. W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, n. 4, p. 1117–1131, 2010.

VEASEY, S.; MURIANA, P. Evaluation of Electrolytically-Generated Hypochlorous Acid (‘Electrolyzed Water’) for Sanitation of Meat and Meat-Contact Surfaces. **Foods**. v. 5, n. 2, p. 42, 2016.

VEDTA - Programa de vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos. **Relatório 2013**. Divisão de Vigilância Epidemiológica/RS- Secretaria da Saúde do Estado.

VIZZIER-THAXTON, Y.; EWING, M. L.; BONNER, C. M. Generation and detection of trihalomethanes in chicken tissue from chlorinated chill water. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 19, n. 2, p. 169–173, 2010.

VOSS-RECH, D. *et al.* Longitudinal study reveals persistent environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Veterinary Microbiology**, v. 233, n. February, p. 118–123, 2019.

WALES, A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R. Assessment of cleaning and disinfection in *Salmonella* -contaminated poultry layer houses using qualitative and semi-quantitative culture techniques. v. 116, p. 283–293, 2006.

WANG, H. *et al.* Biofilm formation of *Salmonella* serotypes in simulated meat processing environments and its relationship to cell characteristics. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 10, p. 1784–1789, 2013a.

WANG, H. *et al.* In situ characterization and analysis of *Salmonella* biofilm formation

under meat processing environments using a combined microscopic and spectroscopic approach. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 3, p. 293–302, 2013b.

WANG, H. *et al.* Effects of microbial redox cycling of iron on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution systems. **Water Research**, v. 65, p. 362–370, 2014.

WANG, H. *et al.* Removal of *Salmonella* biofilm formed under meat processing environment by surfactant in combination with bio-enzyme. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 298–304, 2016.

WANG, H. *et al.* Effects of O3/Cl2 disinfection on corrosion and opportunistic pathogens growth in drinking water distribution systems. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 73, p. 38–46, 2018a.

WANG, H. *et al.* Combination of a novel designed spray cabinet and electrolyzed water to reduce microorganisms on chicken carcasses. **Food Control**, v. 86, p. 200–206, 2018b.

WANG, H. *et al.* Primary concerns regarding the application of electrolyzed water in the meat industry. **Food Control**, v. 95, n. July 2018, p. 50–56, 2019a.

WANG, H. *et al.* Primary concerns regarding the application of electrolyzed water in the meat industry. **Food Control**, v. 95, n. June 2018, p. 50–56, 2019b.

WANG, R. *et al.* Biofilm Formation, Antimicrobial Resistance, and Sanitizer Tolerance of *Salmonella enterica* Strains Isolated from Beef Trim . **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 14, n. 12, p. 687–695, 2017.

WEBBER, B. *et al.* *Salmonella* Enteritidis forms biofilm under low temperatures on different food industry surfaces. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 7, 2019.

WHITEHEAD, K. A.; VERRAN, J. Formation, architecture and functionality of microbial biofilms in the food industry. **Current Opinion in Food Science**, v. 2, p. 84–91, 2015.

WHO (World Health Organization). Health Topics: *Salmonella* (non – typhoidal). 2018. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). Acessado em 20 de janeiro 2020.

WILSMANN, D. E. *et al.* Electrochemically-Activated Water Presents Bactericidal Effect Against *Salmonella* Heidelberg Isolated from Poultry Origin. **Foodborne pathogens and disease**, v. XX, n. Xx, p. 1–6, 2019.

WOLYNEC, S. **Técnicas Eletroquímicas em Corrosão**. São Paulo; EdUSP, v. 49, p. 166, 2003.

YAN, J.; BASSLER, B. L. Minireview Surviving as a Community : Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms Minireview. **Cell Host and Microbe**, v. 26, n. 1, p. 15–21, 2019.

ZANG, Y. T. *et al.* Modeling disinfection of plastic poultry transport cages inoculated with *Salmonella* enteritidis by slightly acidic electrolyzed water using response surface methodology. **Poultry Science** n. 94:2059–2065, 2015.

ZENG, X. *et al.* Studies on disinfection mechanism of electrolyzed oxidizing water on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 5, 2010.

ZHAO, L.; LI, S.; YANG, H. Recent advances on research of electrolyzed water and its applications. **Current Opinion in Food Science**, v. 41, n. Cdc, p. 180–188, 2021.

ВОРОБЕЙ, Е.; ВОРОНКОВА, О.; ВИННИКОВ, А. Бактериальные биопленки. Quorum sensing – «Чувство кворума» у бактерий в биопленках. **Вісник Дніпропетровського Університету. Біологія, Екологія**, v. 20, n. 1, 2012.

APÊNDICE A – Isolados de *Salmonella* Heidelberg utilizados no experimento.

Identificação	Ano de isolamento	Fonte de isolamento	<i>Pool</i>
9	2018	Swab de arrasto	1
11	2018	Swab de arrasto	2
13	2018	Swab de arrasto	2
16	2018	Swab de arrasto	1
25	2018	Swab de arrasto	2
33	2019	Swab de arrasto	2
51	2018	Swab de arrasto	1
52	2018	Swab de arrasto	1