



## PREVENÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *Salmonella* NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

---

Victor Barbosa Rodovalho<sup>1</sup>, Patrícia Lopes Andrade<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Especialização em Controle de Qualidade em Processos Alimentícios pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), Uberlândia – MG, victorbarbosa-bio@hotmail.com

<sup>2</sup>Possui graduação em Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Lavras. Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal do Ceará. Atua com pesquisa e leciona ciência e tecnologia de carnes e derivados, pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (IFTM), Uberlândia – MG, patricialopes@iftm.edu.br

Recebido em: 15/11/2021 – Aprovado em: 15/12/2021 – Publicado em: 30/12/2021

DOI: 10.18677/EnciBio\_2021D43

trabalho licenciado sob licença [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

---

### RESUMO

Bactérias que integram o gênero *Salmonella* representam uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos (DTA). Há determinados grupos alimentares que necessitam de atenção especial, dentre eles os alimentos de origem animal, sobretudo frangos que são capazes de portar alguns sorotipos patogênicos aos humanos sem que apresentem sintomas para consolidar a transmissão. A maneira mais ágil de esses microrganismos se proliferarem consiste na formação de biofilmes, ecossistemas complexos, que apresentam um ponto fixo de contaminação e se alastram no ambiente industrial, principalmente quando os protocolos de higiene e limpeza são negligenciados. Assim, o presente estudo visa elucidar sobre essa sucessão de fatores, os quais causam sérios problemas para as indústrias alimentícias, seja econômico, seja de saúde pública. Portanto, a forma mais eficiente de manter o ambiente industrial longe de surtos em função desses microrganismos, é o cumprimento e o respeito às Instruções Normativas, veiculadas pelo Ministério da Saúde e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, as quais orientam a devida sanitização e limpeza dos ambientes industriais alimentícios.

**PALAVRAS-CHAVE:** Contaminação Alimentar; Microrganismos; Saúde Pública.

### PREVENTION OF BIOFILM FORMATION OF *Salmonella* IN THE FOOD INDUSTRY

#### ABSTRACT

Bacteria that make up the *Salmonella* genus represent one of the main causes of foodborne illness (DTA). There are certain food groups that need special attention, including foods of animal origin, especially chickens that are capable of carrying some pathogenic serotypes to humans without showing symptoms to consolidate transmission. The quickest way for these microorganisms to proliferate is the formation of biofilms, complex ecosystems that have a fixed point of contamination and spread in the industrial environment, especially when hygiene and cleaning

protocols are neglected. Thus, this study aim to elucidate this succession of factors which causes serious problems for the food industries, whether economic or public health. Therefore, the most efficient way to keep the industrial environment away from outbreaks of these microorganisms is to comply with and respect the Normative Instructions, issued by the Ministry of Health and the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply, which guide the proper sanitization and cleaning of industrial environments.

**KEYWORDS:** Food Contamination; Microorganisms; Public Health.

## INTRODUÇÃO

Com o aumento e a rapidez com que as informações estão chegando à população, os consumidores de alimentos estão cada dia mais exigentes quanto ao produto que se põe à mesa. A preocupação com o sabor e a beleza do alimento já não vem em primeiro lugar, estando mais preocupados com a qualidade e a segurança dos produtos (HIRSH; ZEE, 2016).

Essa mudança de comportamento fez com que as indústrias alimentícias adotassem medidas para garantir além de melhores sabores e beleza também a qualidade e a segurança durante todas as etapas do processo de produção até o produto final. Para tanto, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA – atualiza constantemente as normas vigentes com relação aos padrões microbiológicos e aos programas de autocontrole (TAYLOR *et al.*, 2017).

Conforme prevê a Portaria nº 363/1997 do MAPA (BRASIL, 1997a), que regulamenta identidade e qualidade de queijo *Pategrás Sandwich*, programas de autocontrole são primordiais para manter a sanidade e inocuidade do alimento. Desse modo, o controle se inicia na recepção da matéria prima destinada à produção de alimentos industrializados, sendo as Boas Práticas de Fabricação (BPF) uma das ferramentas de controle que assegurará qualidade suficiente para não oferecer riscos à saúde do consumidor (MCVEY *et al.*, 2016).

Assim como o referido instrumento normativo, há inúmeras portarias que determinam as condições e modos que um gênero alimentício deve ser manipulado conforme o produto. Somente em relação a queijos, por exemplo, há mais de 10 (dez) instruções normativas e portarias, tais como a Portaria nº 358/1997 (BRASIL, 1997b), a qual regulamenta a respeito do queijo prato, e a Instrução Normativa nº 73/2020 (BRASIL, 2020), sobre provolone.

A manipulação inadequada de alimentos e a falha no programa de autocontrole da empresa podem acarretar contaminação de equipamentos e do alimento. Por isso é tão importante destinar a devida atenção a todas as etapas da cadeia de produção. Ao mencionar a respeito da contaminação biológica, pode-se citar o biofilme, que segundo Scherrer e Marcon (2016), é definido como uma comunidade microbiológica complexa na qual o microrganismo consegue resistir com maior eficiência a ambientes adversos, principalmente em se tratando de fases de limpeza e sanitização, e propicia a contaminação alimentar.

Isso porque os alimentos tanto de origem animal quanto vegetal ostentam uma microbiota habitual, proveniente do próprio tecido original. Em virtude disso, há intensa dificuldade em obstar a colonização natural. Ademais, durante o processamento dos alimentos, as etapas de manipulação são propícias para que ocorra contaminação (GERMANO; GERMANO, 2019).

Dentre os principais agentes patogênicos, há três características em comum: quanto ao agente, possui curto período de incubação; quanto às doenças e sintomas

ocasionados por sua ingestão, estão eminentemente associadas a um quadro clínico gastrointestinal; podendo haver episódios de febre (TAYLOR *et al.*, 2017).

Com o aumento pela demanda por alimentos de qualidade, ainda que industrializados, concomitantemente, há a necessidade de padrões rigorosos durante toda a cadeia de produção a fim de minimizar a contaminação. A presença constante de microrganismos no ambiente requer a utilização de técnicas que sejam capazes de manter a qualidade dos produtos alimentícios (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

De acordo com Oliveira *et al.* (2020), uma das grandes preocupações das pequenas e grandes indústrias, que revelam-se através das constantes atualizações normativas do MAPA, é a formação de biofilmes causada por microrganismos nos equipamentos. É possível citar como um dos formadores de biofilmes nas indústrias a *Salmonella*, bactéria da família das Enterobacteriaceae e potencial causadora de intoxicação alimentar. Dentre as espécies de *Salmonella*, segundo Oliveira *et al.* (2020), há duas que são patogênicas ao homem e, por isso, acentuam o grau de preocupação sanitária, quais sejam: *enterica* e *bongori*.

Ressalta-se que a presente pesquisa se trata de uma revisão de literatura. Os bancos de dados utilizados para a pesquisa foram PUBMED, SCIELO e Google Acadêmico. Ademais, foi feito um levantamento bibliográfico no período compreendido entre 1997 a 2020. Para elaborar a Revisão de Literatura, foram utilizadas 29 fontes literárias, dentre elas livros, artigos científicos e trabalhos acadêmicos.

O presente estudo teve como objetivo revisar artigos sobre a descrição da *Salmonella*, a formação de biofilmes desse gênero nas indústrias de alimentos bem como a prevenção deste perigo em todas as etapas da cadeia de produção através de regulamentações específicas e eficazes, além de práticas adequadas do processo de limpeza e higienização.

### **CARACTERIZAÇÃO DO GÊNERO *Salmonella***

A família *Enterobacteriaceae* é composta por membros muito parecidos entre si, contendo parede celular própria de microrganismos Gram negativos, constituída interna e externamente por membranas separadas por glicopeptídeos, com a presença de várias proteínas que diferenciam de acordo com gênero, espécie e subespécie. O gênero *Salmonella* é extensamente analisado dentro desta família, em que os representantes são espécies que apresentam mobilidade, havendo poucas variantes imóveis (HIRSH; ZEE, 2016).

Sabe-se que a *Salmonella* está largamente distribuída na natureza, sobretudo localizada no trato intestinal de animais e humanos. Devido à sua presença ocorrer em maior grau em aves, quando estas são destinadas ao consumo humano, há de se destinar maior atenção em todo o processo, desde a criação ao abate (HIRSH; ZEE, 2016).

Ademais, suínos, equinos e animais domésticos e selvagens também podem ser portadores e transmissores de *Salmonella*. A abundante distribuição desse agente facilita o contágio e a dispersão de diversas zoonoses, as quais são constantemente fonte de preocupação tanto em relação aos prejuízos econômicos, quanto à saúde dos consumidores (SCHERRER; MARCON, 2016).

A multiplicação ocorre em ambientes cuja temperatura esteja entre 7°C e 49,5°C, sendo 37°C a ideal para o desenvolvimento. Esse gênero contém os principais agentes etiológicos causadores de surtos em alimentos com elevado teor

de umidade e alta porcentagem de proteínas, tais como produtos lácteos e carnes (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

Segundo Germano e Germano (2019), esse gênero é constituído por duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, e mais de 2.500 sorotipos. Alguns sorovares, como Enteritidis, Typhimurium, Newport, Infantis, Virchow, Hadar e Agona foram os sorotipos mais frequentemente isolados de seres humanos em todo o mundo no período de 2001 a 2007.

Grande parte dos sorotipos de *Salmonella enterica*, espécie mais comum, é móvel e flagelada, exceto: Gallinarum e Pullorum. Trata-se de uma espécie anaeróbica facultativa fermentadora de glicose que, comumente, não é capaz de fermentar lactose e sacarose. Todavia, há cepas que podem adquirir essa capacidade através de transferência de plasmídeo. Essa característica referente a não fermentação de lactose é importante tendo em vista que permite a pré-identificação laboratorial da bactéria em isolamento de cultura através de meios diferenciais e seletivos (MCVEY *et al.*, 2016).

Essas bactérias possuem capacidade em se adequar ao pH ácido, por isso conseguem sobreviver durante o processo de fermentação alimentar. Além disso, não suportam concentrações de sal que sejam superiores a 9%, sendo o nitrito inibitório e seu efeito enfatizado pelo pH ácido (SCHERRER; MARCON, 2016).

Destaca-se que, no Brasil, no início da década de 90, entre os anos de 1994 e 1995, foram descritos diversos surtos de salmonelose, principal doença provocada por *Salmonella*, acometendo centenas de pessoas. Segundo Lombardi *et al.* (2020), dentre 4.581 isolamentos realizados de *Salmonella* sp., a fim de averiguar a ocorrência de uma quantidade tão alto contágio, a *Salmonella enteritidis* foi o sorovar preponderante, representando 32,7% do número total de isolados.

Há uma relação entre a variação genética em *Salmonella* spp. e a codificação de estruturas como os lipopolissacarídeos, flagelos e, fímbrias, assim como a expressão de genes de virulência específicos que alteram a fisiologia celular ou protegem o patógeno das defesas do hospedeiro pelo seu sistema imunológico. Portanto, a pressão seletiva para provocar o polimorfismo genético responsável por variação antigênica dessas bactérias é consequência direta da presença das estruturas de superfície, já que são alvos do sistema imune do hospedeiro (FIERER; GUINEY, 2001).

Os genes dotados de virulência de *Salmonella* spp. localizam-se em regiões específicas do cromossomo, as quais são denominadas Ilhas de Patogenicidade de *Salmonella*. Cinco são as ilhas conhecidas, denominadas SPI-1 à SPI-5. O agrupamento é dividido conforme a atividade, seja adesão, invasão da célula hospedeira, produção de toxinas, multiplicação (MADIGAN *et al.*, 2016).

Ressalta-se que os mecanismos biológicos implícitos no genoma de cepas de *Salmonella enterica* e sua repercussão na epidemiologia da doença causada por este patógeno é frequentemente objeto de estudos e determina a variabilidade fenotípica. Nesse sentido, a recombinação genética é considerada a fonte da variação evolutiva da maioria dos organismos procaríotos, exemplo visto por meio da troca de genes entre duas moléculas de DNA para formar novas combinações em um cromossomo (TORTORA *et al.*, 2017).

Calcula-se que, aproximadamente, 25% do material genético de uma bactéria são obtidos de outra célula, podendo esta ser da mesma espécie ou não. Além disso, esse evento possui papel essencial na preservação da integridade genética através da reparação de possíveis falhas no DNA bacteriano (CARNEIRO; COSTA, 2020).

Os genes codificadores de funções específicas são altamente propensos à recombinação e transferência gênica horizontal em determinadas espécies de bactérias, de modo que antígenos semelhantes podem ser encontrados em cepas distantemente relacionadas (BOUCHER *et al.*, 2007). No gênero *Salmonella*, a presença de tais elementos é rotineiramente analisada e associada a genes de resistência a antimicrobianos, em geral, sendo estimada como ilhas de resistência antimicrobiana. Tornando-se, portanto, importantes indicativos do desenvolvimento e distribuição desse mecanismo entre os diversos sorotipos de *Salmonella* (MIRIAGOU *et al.*, 2006).

Insta salientar que, a infecção por *Salmonella* inicia-se na mucosa do intestino delgado e do cólon. Assim, esses microrganismos penetram a camada epitelial intestinal a fim de se proliferar. Ao ocorrer o processo de fagocitose, resposta inflamatória à invasão bacteriana, culmina em uma elevada atividade do sistema reticuloendotelial e liberação de prostaglandinas, as quais estimulam adenilciclase. Todo esse processo aumenta a secreção de água e eletrólitos, que resulta em diarreia aquosa (GERMANO; GERMANO, 2019).

Consumir alimentos que não tenham se submetido a tratamento higiênico adequado, tais como ovos, carnes, salsichas, pode ocasionar, em humanos, a reação supracitada. É necessário minucioso cuidado com a higiene no processo de produção dos alimentos, pois a presença desse microrganismo é considerável, podendo estar na água, solo e hortaliças contaminadas por fezes, não se restringindo apenas a carnes e produtos lácteos (SCHERRER; MARCON, 2016).

Devido ao fato de a penetração de *Salmonella* spp. ficar restrita à lâmina própria, a infecção apenas ocorre na mucosa intestinal após ingestão de alimentos contaminados com números significativos de espécies ou sorovares não hospedeiro-específico. Ainda assim, esse quadro clínico apresenta diarreia, dores abdominais, vômito e febre, além de, raramente, culminar em morte. Em torno de 5% dos pacientes tornam-se portadores desta bactéria após curar-se dos sintomas (GERMANO; GERMANO, 2019).

Entende-se que a infecção por *Salmonella enterica* em humanos é complexa, uma vez que essa bactéria expressa estratégias de invasão dos enterócitos que culmina em um quadro inflamatório. Destaca-se que os sorotipos *Enteritidis* e *Typhimurium* são, de maneira particular, importantes para este processo inflamatório intestinal. Basta verificar como ocorre a transmissão para que se constate que erros inerentes à falta de higiene no processo de produção e manipulação dos alimentos seja crucial para propiciar uma vasta cadeia de transmissão (TORTORA *et al.*, 2017).

Além das características provenientes da *Salmonella*, atributos relacionados à superfície onde ocorre o processo de adesão e formação de microcolônias dependem de uma sucessão de fatores. Por isso, sabendo como acontece esse processo, torna-se mais eficiente a normatização e uso de substâncias no combate e na remoção desses agentes (KICH; SOUZA, 2015).

A constante busca por uma metodologia que seja, ao mesmo tempo, adequada e eficiente na detecção de *Salmonella* spp. em alimentos resultou em métodos tecnológicos. No entanto, o método cultural clássico permanece sendo a referência nos laboratórios de monitoramento dessa bactéria nas indústrias de alimentos (MIRIAGOU *et al.*, 2006).

Esse método cultural clássico possui algumas etapas, quais sejam: pré-enriquecimento não seletivo; enriquecimento seletivo; isolamento de colônias típicas; e testes fenotípicos, imunológicos e moleculares. Cada etapa realizada nos laboratórios é fundamental para examinar e acompanhar o comportamento desses

microrganismos. Ao compreender o desempenho das microcolônias, estabelece-se dosagem e procedimento mais adequado a cada caso (MIRIAGOU *et al.*, 2006).

### **BIOFILME: DESCRIÇÃO E COMBATE**

Descreve-se biofilme como uma comunidade bem estruturada de microrganismos que podem se aderir a superfícies de utensílios e equipamentos da indústria alimentícia, que se fixam por meio de uma matriz extracelular de polissacarídeos (COSTA *et al.*, 2016). Esse processo pode desenvolver microrganismos patogênicos por motivos de falhas nos procedimentos de higienização e limpeza, trazendo grandes prejuízos à indústria de alimentos e graves problemas à saúde do consumidor.

Importante salientar que o desenvolvimento dessas colônias consiste em uma estrutura complexa que ocorre através da interação entre células. Assim, esses organismos promovem reações capazes de formar uma espécie de “capa” entre si, utilizando a superfície como ponto de fixação e ampliação de seu alcance (OLIVEIRA JUNIOR, 2019).

Essa adesão inicial, imprescindível ao processo de formação de biofilme, acontece, no ambiente industrial, principalmente, em superfície onde haja processamento de alimentos. Isso ocorre em curto espaço de tempo, em torno de cinco a 30 segundos, exatamente nesses locais onde haja o contato do alimento a alguma superfície (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Ao produzir substâncias poliméricas extracelular (SPE), fortalecem a capacidade de adesão à superfície e se tornam mais resistentes ao processo de limpeza e aos produtos sanitizantes. Como o desenvolvimento desses microrganismos está intimamente ligado a diversos fatores, tais como propriedades materiais da superfície de contato, temperatura, nível de pH, parcela de nutrientes, força específica da bactéria, a capacidade de adesão pode variar conforme o caso concreto (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Para ocorrer a formação e fixação do biofilme há cinco etapas, sendo: a Adesão Inicial, quando a higienização não for realizada corretamente, os microrganismos começam a aderir a superfície; a Adesão Irreversível, em que as bactérias já existentes e não eliminadas começam a se multiplicar formando microcolônias; a Maturação, quando as microcolônias se multiplicam e cobrem todas as superfícies de utensílios e equipamentos; o Desenvolvimento, em que o biofilme se torna mais complexo e denso conforme as células se dividem ou morrem; e, por fim, a Dispersão, na qual o biofilme atinge o ponto mais crítico, alcançando o equilíbrio dinâmico e células de microrganismos começam a ser dispersas através de suas camadas mais externas (SCHERRER; MARCON, 2016).

Uma vez consolidada a ligação irreversível, após todas as etapas supracitadas, é imprescindível o uso de produtos que consigam estabelecer um processo contrário à estabilidade formada entre células das microcolônias, tais como: detergente, surfactantes ou desinfetantes. Além disso, há a possibilidade de utilização de calor a fim de auxiliar esse processo de limpeza (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Embora o processo de fixação dependa de uma combinação de fatores, sabe-se que não há superfície que esteja totalmente protegida da formação de biofilmes, podendo haver, independentemente do material que a constitui, o desenvolvimento de microrganismos que comprometem o meio industrial. Logo, metais, vidros, plásticos, madeiras são materiais suscetíveis a formação e proliferação de colônias. Identificado o material, outros fatores contribuem para a facilitação e o fortalecimento

da propagação de microrganismos, como textura, hidrofobicidade, temperatura, pH (TAYLOR *et al.*, 2017).

Conforme mencionado, sendo a adesão o fator inicial que desencadeia a formação de biofilme, deve haver uma combinação entre materiais que desfavoreçam a proliferação de agentes patogênicos e manutenção de protocolos de desinfecção dos ambientes onde ocorra o contato dos alimentos com os equipamentos. A principal estratégia a fim de manter as indústrias livres de *Salmonellas* e de formação de biofilmes é a assepsia (HIRSH; ZEE, 2016).

Entende-se que as microcolônias formam-se por meio da concentração e desenvolvimento desses microrganismos. Uma vez iniciada a formação de SPE, auxilia a consolidação entre organismo e substrato, protegendo a colônia de perturbações do ambiente. Toda essa estrutura de adesão, produção de substâncias e fortalecimento de fixação e proliferação promove a constituição do biofilme (TORTORA *et al.*, 2017).

Uma vez escolhido um material que impeça ou, ao menos minimize, a adesão de *Salmonella*, por exemplo, é preciso alterar suas propriedades superficiais, podendo adequá-la ao processo de redução de contaminação. Para tanto, utilizam-se produtos antimicrobianos ou alteram-se a hidrofobicidade e rugosidade do material (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

Sabendo que a hidrofobicidade consiste na afinidade ou repulsão do material formador da superfície em relação à água, a adesão dos agentes microbianos ocorre mais facilmente através da hidrofobicidade. Quanto à rugosidade, relaciona-se com a topografia do material, a qual pode elevar ou reduzir a superfície de contato e otimizar ou retardar a ocorrência de lugares protegidos que sejam favoráveis à formação de microcolônias. Os produtos químicos destinados ao uso para prevenção de formação de biofilmes auxiliam no processo de limpeza, mas as características dos materiais associadas a estes são capazes de beneficiar a sanitização (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

Segundo Scherrer e Marcon (2016), há a possibilidade de salmonelas formarem biofilmes em superfícies como plástico, borracha, vidro, aço inoxidável. Assim, esses biofilmes consolidam estudos de que a *Salmonella* é um dos principais agentes formadores de biofilmes.

Após a formação de biofilmes, instala-se um ambiente favorável à proliferação tanto dos microrganismos formadores quanto daqueles que utilizam o meio constituído para torná-lo mais resistente, elevando sua sobrevivência e disseminação, assim como dificultando a eliminação dos biofilmes. Entende-se que há uma espécie de colaboração entre os agentes formadores de biofilmes e outros menos propensos à essa formação (COLLING *et al.*, 2020).

Essa colaboração natural somente pode ser desfeita ou impedir sua formação através de uma rotina rigorosa de limpeza. Recomenda-se, em geral, que as superfícies que ficam expostas ao contato com o alimento sejam limpas diversas vezes em um mesmo dia. Quanto aquelas do ambiente, por exemplo, paredes, sejam limpas uma vez ao dia (COLLING *et al.*, 2020).

Há relatos de formação de biofilmes em equipamentos e em redes de processamentos sejam inerentes a biofilmes antigos que se originaram em superfícies ambientais. Assim, não basta somente a higienização dos locais onde haja o contato direto com o alimento (OPLUSTIL *et al.*, 2019).

Um fator que tem alertado especialistas são os casos relacionados a toxinfecções provenientes do consumo de alimentos que não tenha aparência, sabor e odor anormais. Nesses casos, entende-se que a quantidade que ocasionou a

infecção foi menor que aquela necessária para degenerar o produto alimentício (KICH; SOUZA, 2015).

Conseqüentemente, torna-se mais difícil rastrear os alimentos que tenham ocasionado doenças, pois, por vezes, o consumidor não consegue associar a ingestão do alimento contaminado aos sintomas acarretados. Todavia, é preciso, nos casos em que seja possível estabelecer um processo de rastreamento, realizá-lo a fim de dirimir prejuízos, adequar as práticas de higiene e limpeza industrial bem como identificar o principal agente causador de contaminações (OPLUSTIL *et al.*, 2019).

As indústrias perseguem a disponibilização do alimento seguro, segundo o qual os constituintes ou contaminantes capazes de ocasionar riscos à saúde estão ausentes ou em quantidades inferiores ao limite de risco. Sabendo que é inviável buscar a eliminação de todos os microrganismos em um ambiente onde haja preparo alimentar, os esforços devem se concentrar para estabelecer os menores níveis de contaminação possíveis (SCHERRER; MARCON, 2016).

### **PREVENÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *Salmonella* NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

Sabendo que o biofilme consiste em uma comunidade de microrganismos sésseis compostos por células que se fixam à superfície úmida contendo matriz extracelular de exopolissacarídeos, a interação desses organismos no ambiente industrial, sobretudo alimentício, representa uma preocupação constante. Por um lado, a sua formação é uma estratégia de sobrevivência desses organismos quando presentes em ambientes desfavoráveis; por outro, a multiplicação propicia séria fonte de contaminação microbiana alimentar (KICH; SOUZA, 2015).

A fixação dos microrganismos é necessária para manutenção da sobrevivência e proliferação. Para isso, é indispensável que produzam fatores capazes de proporcionar a adesão às superfícies sólidas, dentre estes, destacam-se os polissacarídeos extracelulares, conforme explanado anteriormente, polímeros secretados por grande parcela de bactérias (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

A mais comum, como supracitado, a *Salmonella*, fixa-se de forma estável em diversas superfícies, aumentando seu alcance, formando o biofilme. A formação de biofilme na indústria alimentícia é um desafio a ser insistentemente combatido, visto que sua adesão dificulta o processo de remoção e propicia a contaminação. Uma vez aderido, dificilmente o biofilme permite a realização adequada dos processos de higienização (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

Assim, primeiramente, deve-se tentar evitar a formação de biofilme, sobretudo mantendo uma rotina de higienização preventiva. Caso ocorra a formação de biofilme, providenciar a imediata retirada e a sanitização tanto da superfície quanto do ambiente (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Em geral, o controle é realizado através da aplicação de agentes químicos sanitizantes. Para melhor percepção e acompanhamento, pode-se submeter amostras a laboratórios a fim de compreender as formas de organismos viáveis capazes de ocasionar contaminação alimentar. Amostras são analisadas e, em caso de formação de biofilme, observa-se a contagem de microrganismos para se definir a melhor estratégia de combate. O monitoramento deve ser realizado conforme o tipo de alimento produzido e as normas estabelecidas pelo MAPA ou pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (SCHERRER; MARCON, 2016).

Por isso, o controle da formação de biofilmes é essencial para a segurança dos alimentos, haja vista o processo de adesão de agentes patogênicos. Ao liberar



células panctônicas, o biofilme atinge outras superfícies além da qual está aderido. A disseminação de microrganismos no interior de indústrias de alimento está associada a surtos de doenças transmitidas por alimentos – DTA (BARBOSA *et al.*, 2018).

Nesse sentido, biofilmes de *Salmonella* spp. em equipamentos e superfícies de processamento de alimentos atuam como um reservatório constante de contaminação, deixando em risco a saúde dos consumidores. Ressalta-se que, em relação ao biofilme formado por *Salmonella enteritidis*, a celulose é o principal componente. Isso representa um fenótipo essencial do ciclo de vida do organismo a fim de atingir melhor adaptação no ambiente bem como maior possibilidade de colonização em hospedeiros animais (BARBOSA *et al.*, 2018).

Quando as bactérias conseguem atingir os produtos e contaminar os alimentos, são capazes de alterar suas características ocasionando perdas econômicas e danos à saúde dos consumidores. Diante de um cenário propício a DTA, faz-se imprescindível a adoção de rigorosos protocolos de higiene (WEBBER *et al.*, 2019).

Como consequências da ingestão de alimentos que tenham sido submetidos à contaminação por microrganismos, como a *Salmonella*, são as toxi-infecções alimentares ou DTA, sobretudo em virtude de técnicas impróprias de manipulação e processamento inadequado no meio industrial. Não obstante as perdas econômicas provenientes da contaminação dos alimentos nesse ambiente, os reflexos na saúde do consumidor são ainda mais preocupantes (TORTORA *et al.*, 2017).

Ao mencionar a respeito dessas doenças, Oliveira *et al.* (2010) asseveram que há cerca de 250 tipos de doenças alimentares. Dentre estas, a maioria é causada devido à ingestão de alimentos contaminados por microrganismos patogênicos ou por toxinas provenientes desses agentes (KICH; SOUZA, 2015).

Embora o acometimento humano por DTA seja comum, no Brasil, não há estudos tão consolidados em âmbito nacional que disponham sobre estatísticas e dados sobre microrganismos patogênicos e a relação com alimentos. Isso ocorre, sobretudo, devido ao extenso território nacional e as particularidades regionais (GERMANO; GERMANO, 2019).

Nos últimos anos, diante da necessidade de se acompanhar os casos de DTA bem como de implementar medidas eficientes que diminuam o risco de contágio por meio dos alimentos, especificamente, no contexto industrial, diversos países da América Latina têm destinados esforços a fim de unificar recomendações e acordos. Iniciativas que ocorrem a nível internacional demonstram a necessidade de estabelecerem critérios rigorosos e protocolos eficientes de combate a agentes como a *Salmonella* no interior das indústrias alimentícias (COLLING *et al.*, 2020).

Quanto ao aspecto normativo, a RDC nº 216/2004, adotada pela ANVISA, visava determinar procedimentos comuns e obrigatórios a serem efetivados. Tratam-se das Boas Práticas para serviço de alimentação. Ainda que não abordasse a conjuntura industrial, foi um grande avanço para consolidar práticas sanitárias em ambientes onde se encontrassem alimentos. A finalidade precípua era salvaguardar as condições tanto de higiene quanto sanitária dos alimentos servidos (GERMANO; GERMANO, 2019).

Por isso, não há de se mencionar biofilme sem abordar sua interação no meio industrial. Logo, em relação aos produtos alimentícios, destaca-se a Instrução Normativa nº 20/2016 do MAPA (BRASIL, 2016), a qual revogou a de nº 70/2003, em que detalha rigorosamente o controle acerca do abatimento de animais que, em tese, garante a higienização adequada e a segurança do alimento em todas as fases

industriais. Isso assevera a preocupação quanto à formação de biofilmes nas indústrias alimentícias devido à contaminação por *Salmonella*, por exemplo. Dentre todas as etapas de produção, o processo de higienização é o que mais necessita de atenção, em virtude de possíveis falhas nesse procedimento (KICH; SOUZA, 2015).

A ANVISA dispõe de orientações de métodos de higienização. Se for o caso da utilização de produtos químicos, serão descritos os principais elementos acerca dessa prática, tais como concentração do produto, frequência de utilização, tempo de contato com as superfícies. Segundo Pinheiro *et al.* (2005), em circunstâncias cuja contaminação dos alimentos seja muito alta, pode inferir que a atividade de higiene e limpeza seja inadequada e insuficiente para proteger os alimentos, culminando na aplicação equivocada das boas práticas de manipulação.

Nesse diapasão, falhas no processo de higienização devem ser combatidas, uma vez que resíduos em equipamentos e superfícies possuem alto potencial de se tornarem fonte de contaminação. Caso haja interação entre a *Salmonella* e as superfícies, pode-se desencadear o processo de multiplicação celular e culminar na formação de biofilme (KICH; SOUZA, 2015).

Salienta-se que, a maioria dos produtos que são comercializados visando à limpeza e à desinfecção de superfícies de equipamentos industriais tem como base compostos fenólicos, ácidos orgânicos, álcoois, cloro, compostos de amônio. Embora sejam de extrema importância contra agentes que estejam em suspensão, por vezes, não são suficientes para combater biofilme já instalado em uma determinada superfície. Nesse sentido, a manutenção da limpeza a fim de impedir a formação de biofilme ainda é uma das estratégias mais eficazes no combate à proliferação de agentes patogênicos no âmbito industrial alimentício (OPLUSTIL *et al.*, 2019).

Ademais, o processo de sanitização deve ocorrer em todo o ambiente industrial, uma vez que biofilmes podem se formar, inclusive, em tubulações de água, conquanto o mais comum seja em equipamentos e instalações de processamento de alimentos. Essas duas localidades estão diretamente ligadas ao armazenamento e à manipulação (OPLUSTIL *et al.*, 2019).

Outro aspecto importante relacionado à manutenção de um ambiente limpo consiste na capacidade desses agentes patogênicos oferecerem resistência a desinfetantes, dificultando a eliminação de biofilmes ou suspensões. Essa resistência repercute negativamente no processo de uniformização de técnicas de combate a *Salmonella* no contexto industrial (GERMANO; GERMANO, 2019).

Ainda que as principais preocupações sejam relacionadas à saúde e à economia, o impacto da formação de biofilmes nos equipamentos pode gerar um desgaste excedente através de biocorrosão, aumento de atrito, perdas energéticas, perdas de pressão. Mesmo indiretamente, aspectos econômicos são atingidos, pois elevam os custos com manutenção e aquisição de equipamentos (FORSYTHE; GUIMARÃES, 2013).

Além de proporcionarem alimentos seguros para ingestão, a segurança do recinto industrial também representa uma preocupação por parte dos consumidores os quais não desejam apenas produtos que atendam ao paladar, mas também à saúde. Por isso, os protocolos de limpeza e higienização são requisitos importantes na escolha feita pelos clientes (COSTA *et al.* 2016).

Boas Práticas de Manipulação foi o termo encontrado para se referir aos procedimentos destinados aos serviços de alimentação com a finalidade de preservar a segurança dos alimentos. Pensando nisso, além de diversos instrumentos normativos empregados pelo MAPA na tentativa de individualizar o

procedimento adequado a cada alimento no setor industrial, a RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004 (BRASIL, 2004), adotada pela ANVISA, também foi criada seguindo essa conjuntura de preservação da qualidade alimentar. Assim, por meio desse dispositivo, manipuladores e responsáveis técnicos possuem obrigatoriedade em seguir as normas de qualidade veiculadas pela ANVISA (SHERRER; MARCON, 2016).

As fases de limpeza, higienização e sanitização são fundamentais no recinto industrial. Para isso, é imprescindível que, inicialmente, haja a interação entre métodos manuais e o uso de detergentes. Logo, possibilita redução da carga microbiana, além de elevar a eficiência do emprego do agente sanitizante (SHERRER; MARCON, 2016).

Sabendo que a formação de biofilme nada mais é que a adesão de microrganismos a suportes sólidos que culmina na produção de substâncias poliméricas extracelulares, provocando alterações fenotípicas celulares, a presença desses agentes em ambiente onde alimentos são manipulados pode causar sérios riscos à saúde humana. Tratando-se de processamento alimentício, o acúmulo de materiais em superfícies que favorecem a proliferação de bactérias por meio da formação de biofilme dificulta a higienização. Uma vez formado o biofilme, intensifica-se a resistência dos organismos reorganizados nessa estrutura, podendo tolerar a etapa de limpeza (COLLING *et al.*, 2020).

Por esse motivo, há um padrão de higienização e sanitização que deve ser realizado de forma contínua e nos termos previstos pelas agências responsáveis pelas determinações sanitárias, sejam o MAPA ou a ANVISA. Assim, cada setor alimentício deve se informar acerca das normas vigentes relativas aos alimentos produzidos e manipulados (COSTA *et al.*, 2016).

Além da formação de biofilmes, no caso de animais criados para o consumo, são conhecidas três fases distintas associadas à infecção de aves por sorovares de *Salmonella* spp. De acordo com Germano e Germano (2019), a primeira fase é a relação direta entre bactéria com o hospedeiro, o que geralmente ocorre pelo contato com as próprias fezes feito por via oral. A segunda fase caracteriza-se pela invasão do tecido epitelial da parede do trato gastrointestinal, provocando ou não inflamação do tecido afetado, o que depende de fatores de virulência ligados à cepa. A terceira fase se estabelece quando a bactéria provoca infecção sistêmica, devido à invasão e multiplicação dentro de macrófagos e células dendríticas da mucosa intestinal.

O programa de controle consiste em uma verdadeira estratégia de qualidade em que a *Salmonella* se destaca, haja vista sua sistemática proliferação e reiteração no meio industrial alimentício, seja por meio de contaminação animal ou formação de biofilme. Nesse sentido, sistemas que controlam a *Salmonella* são assegurados tanto pela biossegurança quanto pelas boas práticas de produção (BARBOSA *et al.*, 2018).

Para tanto é essencial a realização de estudos nas diversas etapas do sistema de produção e, quando relacionados a alimentos de origem animal, como o exemplo citado, especificamente em granjas, fábricas de ração e matadouros-frigoríficos. Assim como esses microrganismos acometem seres humanos, também utilizam animais como meio de sobrevivência, contaminação e propagação de DTA (KICH; SOUZA, 2015).

No início do presente artigo, mencionou-se que dentre os animais a ocorrência de *Salmonella* é maior em aves. Por isso, entende-se que é preciso destinar atenção especial em relação aos abatedouros avícolas. Por outro lado,

destaca-se que a indústria avícola tem atingido altos índices produtivos devido ao uso de tecnologia avançada aliada à manutenção de práticas de higiene. Inseridas no contexto de BPF, o objetivo principal é fornecer alimento seguro (KUAYE, 2016).

Ressalta-se que houve um aumento considerável do consumo de carne de frango. Em 2020, o número de consumo per capita de frango, no Brasil, representou 45,27 kg por habitante, chegando a produção, nesse mesmo período, a 13.845 mil toneladas, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (2020).

Independentemente do produto alimentício e dos procedimentos a serem implementados a fim de garantir a segurança e qualidade, há um fator em comum em todos esses processos: implantação de sistema de qualidade e aplicação efetiva de agentes de limpeza e sanitizantes. A retenção e o acúmulo de resíduos bem como a não observação dos cuidados para prevenir a contaminação de alimentos, sobretudo de animais destinados ao abate e de produtos de origem animal, pode culminar na proliferação de microrganismos deteriorantes ou patogênicos e resultar em graves problemas para a saúde humana (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Destarte, resíduos que poderiam ter sido eliminados por meio de um processo minucioso de higienização são capazes de propiciar um cenário ideal para a proliferação de microrganismos que infectam o produto e ocasionam danos à saúde do consumidor. Diante disso, a constante manutenção dos procedimentos de limpeza e higiene combinados com as contínuas diretrizes atualizadas pelo MAPA e pela ANVISA representam ferramentas indispensáveis na prevenção e no combate aos perigos sanitários que circundam o âmbito industrial alimentício (COSTA *et al.* 2016).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O controle de biofilmes formados por agentes microbianos e o combate ao gênero *Salmonella* nas etapas de produções alimentícias industriais é de extrema relevância, uma vez que além dos prejuízos à saúde humana, a proliferação pode causar reflexos negativos no cenário econômico. Assim, é importante compreender as características da *Salmonella*, como agente patogênico comum em ambientes industriais onde a higienização é negligenciada, e a proliferação.

Como a formação de biofilme pode ocorrer em superfícies constituídas por diversos materiais, são essenciais práticas rigorosas para implementar medidas seguras e eficazes de preservação da qualidade alimentar e da sanitização do âmbito industrial. A rotina de limpeza, o uso de produtos desinfetantes, a temperatura do ambiente, os utensílios utilizados representam elementos de boas práticas de produção e de fabricação.

A fim de assegurar procedimentos equânimes nos mais diversos setores industriais de alimento, as instruções normativas referendadas pelo alto escalão, tanto MAPA quanto ANVISA, possuem poder vinculante, ou seja, há obrigatoriedade de cumprimento. Sabendo da diversidade de alimentos produzidos, a busca pela especificação dos processos de limpeza e de higienização muito contribuem para manter a qualidade dos alimentos e para a preservação da saúde humana.

Ainda que haja a necessidade de especificar os procedimentos de higiene e limpeza a serem realizados conforme os alimentos fabricados, é unânime que todo o ambiente alimentício industrial deve ser desinfetado, desde os equipamentos às paredes. A aplicação de sanitizantes em doses corretas e outros protocolos de limpeza são aliados na constante busca por um ambiente livre de *Salmonella* e de outros agentes causadores de DTA e de surtos alimentares.

## REFERÊNCIAS

Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual brasileiro de proteína animal**. São Paulo, 2020. Disponível em: [http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa\\_relatorio\\_anual\\_2020\\_portugues\\_web.pdf](http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf). 5380/acd.v21i1. Acesso em 13 dez. 2021.

BARBOSA, H. R.; GOMEZ, J. G. C.; TORRES, B. B. **Microbiologia básica: bacteriologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2018.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 363, de 14 de setembro de 1997**. Brasília, 1997a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 358, de 4 de setembro de 1997**. Brasília, 1997b.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de outubro de 2016**. Brasília, 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 73, de 24 de julho de 2020**. Brasília, 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Brasília, 2004.

BOUCHER, T.; KAREIVA, P.; WATTS, S.; MCDONALD R. Domesticated nature: shaping landscapes and ecosystems for human welfare. **Science**, v. 316, p. 1.866-1.869, jun. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1140170>. DOI:10.1126/science.1140170. Acesso em 20 out. 2021.

CARNEIRO, D. O.; COSTA, M. S. F. Características e patogenicidade da *Salmonella entérica*: uma revisão de literatura. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 21, n.1, mar/ 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v21i1>. DOI:/10.5380/acd.v21i1. Acesso em 13 nov. 2021.

COLLING, L. B.; SILVA, J. P. M.; DELGADO, G. B.; VASCONCELLOS, F. A.; FÉLIX, S. R.; DUVAL, E. H.; CONCEIÇÃO, R. C.; SILVA, E. F. Avaliação da formação de biofilme por cepas de *Salmonella* spp. isoladas de linguiça frescal. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8. 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/14376>. DOI:10.34117/bjdv6n8-019. Acesso em 13 nov. 2021.

COSTA, K. A. D.; FERENZ, M.; SILVEIRA, S. M.; MILLEZI, A. F. Formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies de indústrias de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 71, n. 2, p. 75-82, abr./jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v71i2.512>. DOI: 10.14295/2238-6416.v71i2.512. Acesso em 20 out. 2021.

FIERER, J.; GUINEY, D. G. Diverse virulence traits underlying diferente clinical outcomes of *Salmonella* infection. **The Journal Of Clinical Investigation**, v. 107, n.

7, p. 775-780. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI12561>. DOI: 10.1172/JCI12561. Acesso em 20 out. 2021.

FORSYTHE, S. J.; GUIMARÃES, M. C. M. **Microbiologia da segurança alimentar**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 6 ed. São Paulo: Varela, 2019.

HIRSH, O. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2016.

KICH, J. D.; SOUZA, J. C. P. V. B. **Salmonela na suinocultura brasileira: do problema ao controle**. Brasília: Embrapa, 2015.

KUAYE, A. Y. **Limpeza e sanitização na indústria de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2016.

LOMBARDI, E. C.; BONNAS, D. S.; JARDIM, F. B. B.; OLIVEIRA, K. A.; SILVA, R. T. Atuação dos profissionais de saúde na investigação de suspeitas de surtos de DTAs nos hospitais de Uberlândia, Minas Gerais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 27, p. 1-9. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8654576>. DOI: 10.20396/san.v27i0.8654576. Acesso em 20 out. 2021.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária**. 3 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2016.

MIRIAGOU, V.; CARATOLLI, A.; FANNING S. Antimicrobial resistance island: resistance gene clusters in *Salmonella* chromosome and plasmids. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 7, p. 1.923-1.930, jun/2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2005.12.027>. DOI: 10.1016/j.micinf.2005.12.027. Acesso em 20 out. 2021.

OLIVEIRA JUNIOR, J. M. B. **Análise crítica das Ciências Biológicas e da natureza**. 2 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, 2019.

OLIVEIRA, K. P.; FARIA, A. C. S.; SILVA, D. P. A.; LISBOA, P. F.; COSTA, A. P.; KNACKFUSS, F. B. *Salmonella* spp. como agente causal em doenças transmitidas por alimentos e sua importância na saúde pública: revisão. **PUBVET**, v. 14, n. 10, p. 1-9, out/2020. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n10a665.1-9>. DOI: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n10a665.1-9>. Acesso em 20 out. 2021.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 277-284. 2010. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/32626/31457>. DOI: <https://doi.org/10.53393/rial.2010.v69.32626>. Acesso em 20 out. 2021.

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SCHEFFER, M. C. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2019.

PINHEIRO, N. M. S.; FIGUEIREDO, E. A. T.; FIGUEIREDO, E. W.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M. Avaliação da qualidade microbiológica de frutos minimamente processados comercializados em supermercados de Fortaleza. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 1, abr. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452005000100040>. DOI: /10.1590/S0100-29452005000100040. Acesso em 13 nov. 2021.

SCHERRER, J. V.; MARCON, L. N. Formação de biofilme e segurança dos alimentos em serviços de alimentação. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**, São Paulo, Ano 7, n. 2, p. 91-99, jul./dez. 2016. Disponível em: <https://rasbran.com.br/rasbran/article/view/102/139>. Acesso em 20 out. 2021.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. 4 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2017

TORTORA, G. J.; FUNCKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 ed. São Paulo: Artmed, 2017.

WEBBER, B.; OLIVEIRA, A. P.; POTTKER, E. S.; DATOIT, L.; LEVANDOWSKI, R.; SANTOS, L. R.; NASCIMENTO, V. P.; RODRIGUES, L. B. *Salmonella enteritidis* forma biofilme sob baixas temperaturas em diferentes superfícies da indústria de alimentos. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, p. 1-9. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181022>. DOI: 10.1590/0103-8478cr20181022. Acesso em 20 out. 2021.