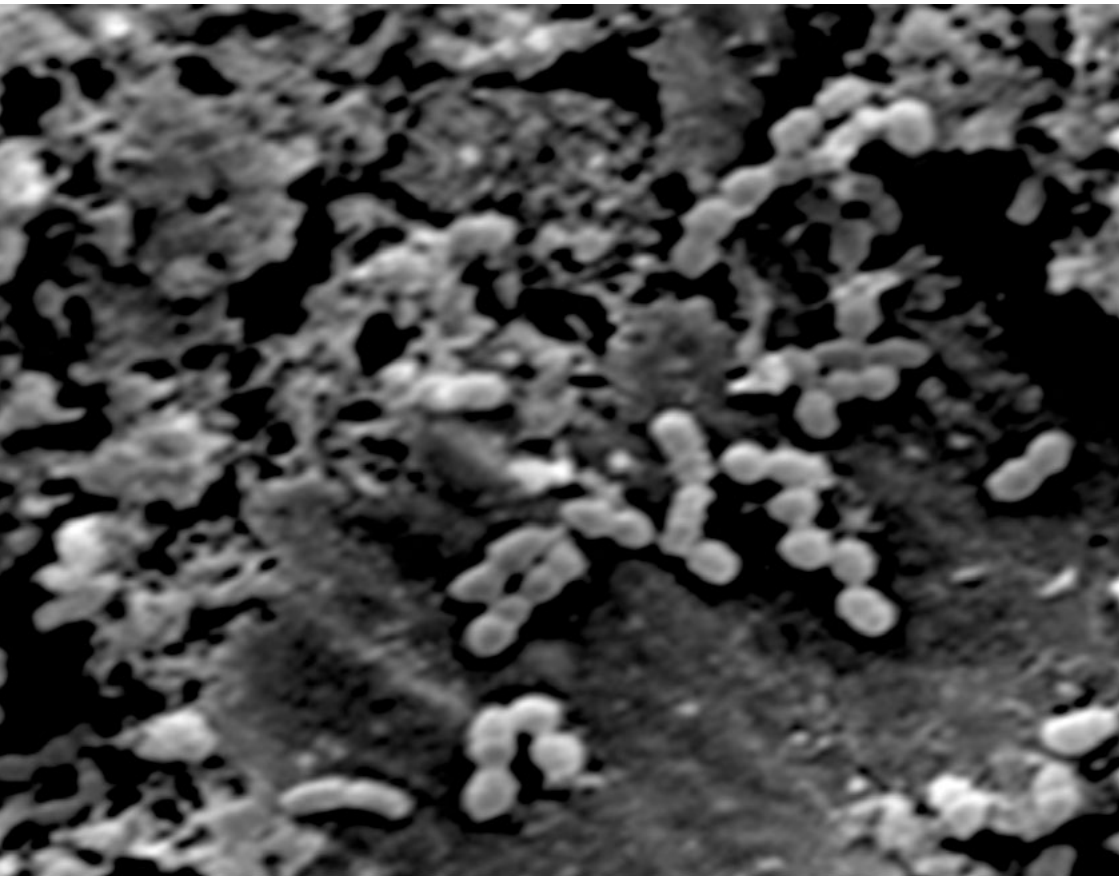


Injúria Microbiana em Alimentos



ISSN 2179-8184

Dezembro, 2013

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 162

Injúria Microbiana em Alimentos

*Terezinha Feitosa Machado
Maria de Fátima Borges*

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2013

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici

CEP 60511-110 Fortaleza, CE

Fone: (85) 3391-7100

Fax: (85) 3391-7109

www.cnpat.embrapa.br

cnpat.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Marlon Vagner Valentim Martins*

Secretário-Executivo: *Marcos Antônio Nakayama*

Membros: *José de Arimatéia Duarte de Freitas, Celli*

Rodrigues Muniz, Renato Manzini Bonfim, Rita de Cassia

Costa Cid, Rubens Sonsol Gondim, Fábio Rodrigues de

Miranda

Revisão de texto: *Marcos Antônio Nakayama*

Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa Cid*

Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

Foto da capa: *Terezinha Feitosa Machado*

1ª edição (2013): versão eletrônica

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Agroindústria Tropical

Machado, Terezinha Feitosa

Injúria microbiana em alimentos / Terezinha Feitosa Machado, Maria de Fátima Borges. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

13 p. : 14,8 cm x 21 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184, 162).

1. Microorganismos. 2. Conservação de alimentos. 3. Reparo de células injuriadas. I. Borges, Maria de Fátima. II. Título. III. Série.

CDD 664.001579

© Embrapa 2013

Autores

Terezinha Feitosa Machado

Engenheira de alimentos, D.Sc. em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, terezinha.feitosa@embrapa.br

Maria de Fátima Borges

Farmacêutica bioquímica, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, maria.fatima@embrapa.br

Apresentação

O controle de microrganismos é o aspecto mais importante da conservação de alimentos, garantindo a segurança e conferindo maior estabilidade ao produto. Os métodos comumente utilizados para conservação de alimentos destroem grande parte da população microbiana. Ainda que alguns microrganismos possam sobreviver, são fisiologicamente afetados e se tornam inaptos a crescer, desde que as condições do tratamento de conservação do alimento sejam mantidas.

A injúria microbiana causada por estresse subletal deve ser compreendida e serve como alerta para a vigilância de alimentos, pois, em condições favoráveis aos microrganismos, eles adquirem capacidade de reparar os danos sofridos durante o tratamento, crescerem novamente e se multiplicarem, tornando-se potencialmente perigosos tanto quanto os microrganismos íntegros. Portanto, a não detecção de microrganismos injuriados pode validar um processo de esterilização inadequado, com conseqüente perigo à saúde do consumidor, além de perdas econômicas devido ao *recall* do produto.

Esta publicação apresenta uma visão geral sobre injúria microbiana, mecanismos de resposta, reparo de células injuriadas e a importância dos microrganismos injuriados em alimentos.

Cláudio Rogério Bezerra Torres

Chefe-Geral interino da Embrapa Agroindústria Tropical

Sumário

Introdução.....	7
Efeitos da injúria na célula microbiana	8
Mecanismos de resposta	8
Reparos de células injuriadas	9
Importância dos microrganismos injuriados em alimentos.....	11
Consiações finais.....	11
Referências	12

Injúria Microbiana em Alimentos

Terezinha Feitosa Machado

Maria de Fátima Borges

Introdução

Os microrganismos são os principais agentes responsáveis pela deterioração de alimentos e intoxicação alimentar, sendo a contaminação microbiológica um grande problema para a indústria de alimentos, agências reguladoras e consumidores (WU, 2008).

Estender a vida de prateleira e produzir alimento seguro é o objetivo da indústria de alimentos. As técnicas disponíveis para a conservação de alimentos incluem a aplicação de calor (pasteurização e esterilização), uso do frio (refrigeração e congelamento), redução de água (desidratação, defumação e salga) e a utilização de conservantes químicos, sendo os ácidos orgânicos os mais utilizados (JAY et al., 2005). O resultado é, invariavelmente, uma redução considerável do número de células viáveis e/ou esporos. Entretanto, a população microbiana no alimento após tratamentos pode incluir células sem viabilidade (irreversivelmente danificadas), células normais (sem danos) e células reversivelmente danificadas ou injuriadas (BOZOGLU et al., 2004).

Os microrganismos injuriados são definidos como aqueles que sobreviveram a um estresse, mas que perderam parte de suas características/habilidades distintivas, e, dessa forma, demandam mais tempo para se multiplicar no alimento. Contudo, em condições

favoráveis aos microrganismos, eles têm capacidade de reparar o dano e em seguida crescer no mesmo ritmo que as células normais (BEALES, 2004; KURBANOGU; ALGUR, 2006). Patógenos adaptados ao estresse, quando expostos por tempo prolongado ao mesmo estresse ou estresse diferente, podem gerar mutações adaptativas, ocasionando o surgimento de novos genótipos (CHUNG et al., 2006). É importante que haja uma compreensão dos tipos de danos celulares e dos métodos analíticos eficazes capazes de detectar esses danos (FOEGEDING; RAY, 1992; CORRADINI; PELEG, 2007).

Efeitos da injúria na célula microbiana

As injúrias microbianas variam de acordo com o tipo de estresse, espécie microbiana, composição e consistência dos alimentos e condições de armazenamento (WESCHE et al., 2009). Jay et al. (2005) ressalta que nem todas as células em uma população resistem à mesma quantidade de danos e nem todas as formas de estresse produzem lesões identificáveis.

Células microbianas injuriadas apresentam muitos componentes estruturais e funcionais afetados como, por exemplo, parede celular, membrana citoplasmática, material genético e enzimas. Quando os danos afetam as barreiras da permeabilidade celular, tornam as células mais susceptíveis aos agentes antimicrobianos (GARCIA et al., 2003). Por outro lado, quando as injúrias promovem a perda de componentes intracelulares como Mg^{2+} , K^+ , aminoácidos, ácidos nucleicos e proteína, prejudicam o crescimento e a replicação celular (BUSTA, 1978; PALUMBO, 1989). Além disso, podem ocorrer danos em macromoléculas e componentes funcionais relacionados com suas atividades metabólicas, causando, assim, danos metabólicos (TSUCHIDO, 2003).

Mecanismos de resposta

Quando submetidos a condições subletais, os microrganismos tendem a desenvolver mecanismos de resposta que os protegem da destruição

celular. Por exemplo, todos os microrganismos têm uma faixa de temperatura na qual são aptos a crescer. Quando expostos a temperaturas acima ou abaixo da considerada ótima para o seu crescimento, produzem um pequeno número de proteínas denominadas, respectivamente, “proteínas de choque térmico” ou “proteínas de resposta ao frio”. Desde que o aumento ou a redução na temperatura não seja demasiadamente grande, essas proteínas os protegem contra o dano, ajudando-os a retornar à sua condição normal (DODD et al., 2007).

Outro mecanismo de resposta celular à injúria pode ocorrer na membrana celular, que apresenta capacidade de se adaptar a mudanças ambientais. Isso ocorre por alterações na estrutura da membrana, como, por exemplo, a diminuição na saturação dos ácidos graxos, tornando as células mais fluidas e capazes de manter suas atividades vitais em temperaturas mais baixas (BOZIARIS; ADAMS, 2001).

A capacidade de adaptação a ambientes secos também é considerada um mecanismo de resposta desenvolvido pelos microrganismos injuriados. A troca de água entre o microrganismo e o meio ambiente ocorre livre e constantemente. Quando o meio extrínseco perde água e se torna mais concentrado, extrai água da célula microbiana, prejudicando-a. Ela responde aumentando seu nível de soluto até exceder a concentração externa; assim, evita a perda de água em demasia e a destruição/inativação celular (EVERIS, 2001). Dessa forma, células que produzem mecanismos de resposta, quando subletalmente danificadas, são capazes de reparar o dano e crescer como uma célula normal.

Reparos de células injuriadas

A restauração de microrganismos injuriados para um estado não injuriado é reconhecida como um processo de recuperação ou reparação, sendo muitas vezes referida como “ressuscitação”, porque as células são reavivadas de uma morte aparente (HURST, 1984). Durante o reparo, o material genético que havia sido danificado é regenerado e os componentes da membrana lesionada são

ressintetizados. Após o reparo, os microrganismos podem se multiplicar de modo acelerado, atingindo populações grandes o suficiente para causarem toxinfecções alimentares e/ou deterioração do alimento (EVERIS, 2001).

Vários métodos, agrupados em diretos, líquidos ou sólidos, foram desenvolvidos para permitir o reparo de microrganismos injuriados em alimentos. Os métodos de reparação direta envolvem a adição de compostos seletivos aos meios de cultura, conferindo certo grau de seletividade, mas não de inibição. Esses métodos são os mais desejáveis e convenientes, uma vez que eliminam a necessidade da etapa de ressuscitação das células antes do plaqueamento seletivo, reduzindo o tempo de análise. Os métodos de reparação líquidos envolvem a ressuscitação das células em meio líquido não seletivo, antes da transferência para um meio sólido seletivo, enquanto, nos métodos sólidos de reparo, o processo de ressuscitação depende da recuperação das células num ágar não seletivo adequado, seguido de sobreposição com um ágar seletivo (DUAN et al., 2006; WU; FUNG, 2006; YAN et al., 2006).

Everis (2001) recomenda que, no desenvolvimento de métodos para detectar microrganismos injuriados, alguns princípios sejam considerados, entre eles:

- a) O número total de microrganismos presentes deve abranger células ilesas e injuriadas.
- b) Células injuriadas, às vezes, têm necessidades nutricionais específicas devido a vias biossintéticas danificadas.
- c) Células injuriadas são temporariamente susceptíveis a muitos compostos seletivos presentes em meios de cultura (MILLER et al., 2006). Na presença desses compostos, as células podem não se repararem ou não crescerem; em alguns casos, também pode ocorrer inativação celular.

- d) Independentemente do método utilizado, a quantidade de células reparadas depende do pH, atividade de água do meio de cultura e temperatura de incubação. A maioria das bactérias são reparadas em pH 7, entre 30 °C e 37 °C.

Importância dos microrganismos injuriados em alimentos

Durante o processamento dos alimentos, é de fundamental importância a inativação/controlar dos microrganismos, a fim de garantir a segurança e estabilidade durante o prazo de validade do produto (RAUHA et al., 2000). Por isso, a presença de microrganismos injuriados em alimentos é considerada uma preocupação de saúde pública. Considerando que tais microrganismos podem, inicialmente, passar despercebidos durante as verificações rotineiras de controle de qualidade, a subsequente reparação celular no alimento os torna mais resistentes ao estresse, permitindo o crescimento microbiano e os resultados subsequentes, incluindo a deterioração, a produção de toxinas e outros fatores de virulência (SHITANI, 2006; WESCHE et al., 2009).

Considerações finais

Considerando que microrganismos injuriados readquirem sua capacidade de crescer e multiplicar quando as condições lhes são favoráveis, sua presença em alimentos não deve ser negligenciada. Uma vez regenerados, representam um perigo em potencial, que pode impactar tanto na saúde do consumidor, como na vida de prateleira do produto. Portanto, procedimentos adequados de recuperação devem ser incorporados aos atuais métodos de detecção e enumeração de microrganismos e implantados para fins regulatórios e de garantia da qualidade dos alimentos.

Referências

BEALES, N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 3, p.1-20, 2004.

BOZIARIS, I. S.; ADAMS, M. R. Temperature shock, injury and transient sensitivity to nisin in gram negatives. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 715-724, 2001.

BOZOGLU, F.; ALPAS, H.; KALETUNC, G. Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic pressure treated milk during storage. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 40, p. 243-24, 2004.

BUSTA, F. F. Introduction to injury and repair of microbial cells. **Advances in Applied Microbiology**, v. 23, p.195-201, 1978.

CHUNG H. J.; BANG, W.; DRAKE, M. A. Stress response of *Escherichia coli*. **Comprehensive Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 52-64, 2006.

CORRADINI, M. G.; PELEG, M. A Weibullian model for microbial injury and mortality. **International Journal of Food Microbiology**, v.119, p. 319-328, 2007.

DODD, C. E. R.; RICHARDS, P. J.; ALDSWORTH T. G. Suicide through stress: a bacterial response to sub-lethal injury in the food environment. **International Journal of Food Microbiology**, v.120, p. 46-50, 2007.

DUAN, J.; LIU, C.; SU, Y.-C. Evaluation of a double layer agar plate for direct enumeration of *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of Food Science**, v. 71, p. 77-82, 2006.

EVERIS, I. Injured bacteria in foods. **Nutrition and Food Science**, v. 31, n. 2, p. 84-87, 2001.

FOEGEDING, P. M.; RAY, B. Repair and detection of injured microorganisms. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.). **Compendium of method for the**

microbiological examination of foods. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. p. 121-134.

GARCIA, D.; GOMEZ, N.; CONDON, S.; RASO, J. PAGAN, R. Pulsed electric fields cause sublethal injury in *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 36, p.140-144, 2003.

HURST, A. **Revival of vegetative bacteria after sublethal heating.** In: ANDREW, M. H.; RUSSELL, A. D. (Ed.). *The Revival of Injured Microbes.* Orlando: Academic Press, 1984. p. 77-103.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology** Microbiology New York: Springer, 2005. p. 229-233.

KURBANOGLU, E. B.; ALGUR, O. F. Utilization of ram horn hydrolysate as a supplement for recovery of heat- and freeze-injured bacteria. **Food Control**, v.17, p. 238-242, 2006.

MILLER, F. A.; BRANDÃO, T. R. S.; TEIXEIRA, P.; SILVA, C. L. M. Recovery of heat-injured *Listeria innocua*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, p. 261-265, 2006.

PALUMBO, S. A. Injury in emerging foodborne pathogens and their detection. In: RAY, B. (Ed.). **Injured Index and Pathogenic Bacteria: occurrence and detection in food, water and feeds.** Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 115-132.

RAUHA, J. P.; REMES, S.; HEINONEN, M.; HOPIA, A.; KÄHKÖNEN, M.; KUJALA, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. Antimicrobial effects of Finish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 56, p. 3-12, 2000.

SHINTANI, H. Importance of considering injured microorganisms in sterilization validation. **Biocontrol Science**, v.11, n. 3, p. 91-106, 2006.

TSUCHIDO, T. Characteristics of injured microorganisms in disinfection process. **JPN Journal Food Microbiology**, v. 20, p. 141-149, 2003.

WESCHE, A. M.; GURTLER, J. B.; MARKS, B. P.; RYSER, E. T. Stress, sublethal injury, resuscitation and Virulence of Bacterial Foodborne Pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 5, p.1121-1138, 2009.

WU, V. C. H. A review of microbial injury and recovery methods in food. **Food Microbiology**, v. 25, p. 735-744, 2008.

WU, V. C. H.; FUNG, D. Y. C. Simultaneous recovery and detection of four heat-injured foodborne pathogens in ground beef and milk by a four-compartment thin agar layer plate. **Journal Food Safety**. v. 26, p.126-136, 2006.

YAN, Z.; GURTLER, J.B.; KORNACKI, J.L. A solid agar overlay method for recovery of heat-injured *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v. 69, p.428-431. 2006.



Agroindústria Tropical

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

