

## Injúria microbiana e a qualidade microbiológica dos alimentos

### *Microbial injury and the microbiological quality of food*

Marília Cristina Sola<sup>1\*</sup>, Cíntia Silva Minafra e Rezende<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Médica Veterinária, Doutora em Ciência Animal, Docente do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM; <sup>2</sup>Doutora em Ciência Animal, Docente da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás – UFG

#### Resumo

**Introdução:** a contaminação microbiológica dos alimentos se apresenta como um grande problema para a indústria, agências reguladoras e consumidores. Os métodos de conservação utilizados como garantia da inocuidade dos alimentos bem como de extensão da vida de prateleira garantem uma redução significativa do número de células viáveis e/espores. Entretanto, em virtude da aplicação de técnicas como calor, frio, redução da atividade de água e adição de conservantes, parte da população microbiana pode apresentar células com danos letais bem como danos reversíveis, tornando-se injuriadas. **Objetivo:** realizar uma revisão bibliográfica acerca da ocorrência de injúrias microbianas decorrentes da aplicação de métodos de conservação em alimentos. **Metodologia:** consulta das bases de dados Pubmed e Scielo, com seleção de artigos publicados entre os anos de 2000 e 2019. **Revisão de literatura:** os microrganismos se tornam injuriados após sobreviverem a condições estressantes e perderem parte de suas características funcionais, o que justifica um maior período para multiplicação nos alimentos, assim como em meios de cultura tradicionais. Cabe ressaltar que, caso estes microrganismos sejam expostos a ambientes favoráveis, é possível a recuperação dos danos sofridos. Uma vez regenerados, estes agentes representam um perigo potencial, visto a capacidade de se multiplicarem novamente no alimento, oferecendo riscos aos consumidores e acelerando a deterioração de produtos alimentícios. **Conclusão:** diante da ocorrência de injúrias microbianas, percebe-se a necessidade de incorporação de procedimentos adequados para recuperação de danos celulares aos métodos oficiais empregados para detecção e enumeração de microrganismos, a fim de garantir a qualidade e inocuidade de alimentos.

**Palavras-chave:** conservação de alimentos; danos celulares; reparação celular.

#### Abstract

**Introduction:** Microbiological contamination of food is a major problem for industry, regulatory agencies and consumers. Preservation methods used to guarantee the safety of food as well as extending the shelf life ensure a significant reduction in the number of viable cells and/or spores. However, due to the application of techniques such as heat, cold, reduction of water activity and addition of preservatives, part of the microbial population may present cells with lethal damage as well as reversible damage, becoming injured. **Objective:** to carry out a literature review about the occurrence of microbial injuries resulting from the application of preservation methods in food. **Methodology:** pubmed and Scielo databases were consulted, with a selection of articles published between 2000 and 2019. **Literature review:** microorganisms become injured after surviving stressful conditions and losing part of their functional characteristics, which justifies a longer period for multiplication in food, as well as in traditional culture media. It should be noted that, if these microorganisms are exposed to favourable environments, it is possible to recover from the damage suffered. Once regenerated, these agents represent a potential hazard, given their ability to multiply again in food, posing risks to consumers and accelerating the deterioration of food products. **Conclusion:** in view of the occurrence of microbial injuries, it is necessary to incorporate adequate cell damage recovery procedures to the official methods used for detection and enumeration of microorganisms, in order to guarantee the quality and safety of food.

**Keywords:** Food preservation; cell damage; cell repair.

#### INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem animal ou vegetal, frescos ou processados, incluindo a água, podem apresentar desde sua origem, contaminação pelos diversos tipos de microrganismos, estes que podem fazer parte da microbiota ou se agregarem aos alimentos durante as diversas etapas do processamento da matéria-prima. Após a contaminação, os alimentos servem como meio para que os microrga-

nismos consigam se multiplicar, pois oferecem condições ótimas para seu desenvolvimento (IORDACHE *et al.*, 2017).

Com a multiplicação dos microrganismos nos alimentos, várias alterações físicas e químicas podem ocorrer, levando a deterioração dos produtos, além das inúmeras doenças que podem acometer o ser humano (MARTINEZ-CHAVEZ *et al.*, 2019).

As doenças veiculadas por alimentos podem ser provocadas por diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, bolores, protozoários e vírus. As bactérias, pela sua maior diversidade e patogenia, constituem o grupo microbiano mais importante e mais associado às doenças

**Correspondente/Corresponding:** \*Marília Cristina Sola – End: Avenida Universitária, n.1000, Bairro Universitários, CEP: 38610-000, Unaí-MG – Tel: (38)3532-6821 – E-mail: mcsmarilia@gmail.com

veiculadas pelos alimentos (NELLURI; THOTA, 2018).

Métodos como aquecimento, refrigeração, congelamento, fermentação, desidratação, salga, irradiação, alta pressão hidrostática e a utilização de conservantes são comumente utilizados no controle da contaminação bacteriana e principalmente na inativação ou controle dos microrganismos patogênicos. Após o tratamento, uma parte dos microrganismos terá sido destruída, outra parte manterá sua viabilidade e o restante da população provavelmente estará injuriada. Cabe ressaltar que, caso estes microrganismos sejam expostos à ambientes favoráveis, é possível a recuperação dos danos sofridos e consequentemente o restabelecimento de sua patogenicidade (MARCÉN *et al.*, 2019; SMELT; BRUL, 2014).

Um bom meio de cultura deveria detectar microrganismos normais e os injuriados. No entanto, a detecção de agentes patogênicos em alimentos que foram submetidos a transformações acaba por ser prejudicada visto que as células injuriadas não conseguem se multiplicar em meios seletivos, antes que a reparação das injúrias aconteça (MACHADO; BORGES, 2013).

Compreendendo-se a importância atribuída à injúria em microrganismos, buscou-se analisar os tipos de injúrias decorrentes dos processamentos tecnológicos, o comportamento dos principais patógenos frente às injúrias e os alguns dos métodos de reparação celular, para uma avaliação correta da natureza e intensidade da contaminação microbiana de um alimento.

## METODOLOGIA

Para identificação dos estudos que abordavam o tema foram feitas buscas sistematizadas em bases de dados eletrônicas via Pubmed e Scielo entre os anos de 2000 e 2019. Os termos de busca principais utilizados nas bases foram “injúria celular”, “injúria microbiana”, “microbiologia de alimentos”, “qualidade de alimentos” e “controle de qualidade de alimentos”. A seleção dos artigos foi realizada inicialmente pela leitura dos títulos, seguida dos resumos, e quando selecionados, por leitura completa das informações.

## Injúrias nos microrganismos

Os procedimentos utilizados para a conservação de matérias-primas ou para o processamento tecnológico dos alimentos utilizam-se de métodos de natureza física ou química que acabam por exercer um efeito deletério variável sobre os microrganismos presentes nos alimentos. Dentre os métodos existentes verificam-se que o aquecimento, congelamento, refrigeração, desidratação, irradiação, salga, acidificação, utilização de conservantes, desinfetantes, antimicrobianos naturais e compostos químicos são fatores capazes de provocar a injúria de células e até de esporos (SMELT; BRUL, 2014).

Segundo Cebrián, Condón e Mañas (2016) a injúria celular pode ser definida como uma célula que sobreviveu a um estresse, porém perdeu uma ou mais de suas

qualidades distintas. É considerada uma consequência de processos físicos ou químicos que danificam, porém não destroem os microrganismos. As injúrias implicam em lesões nas estruturas celulares e a consequente perda das funções, sendo de natureza temporária ou até mesmo permanente, fator este que depende dos tipos de tratamentos aplicados durante o processamento de alimentos.

Após o processamento tecnológico, a população de microrganismos existente no alimento inclui células mortas (sofreram injúrias letais ou irreversíveis), células normais (não injuriadas) e as células injuriadas, estressadas ou que sofreram injúrias subletais ou reversíveis, compondo cerca de 40% da população total (WU, 2008; GOVERS; AERTSEN, 2015).

Para Lushchak (2011), as células injuriadas são aquelas que conseguem formar colônias apenas em meios não-seletivos, visto que os meios seletivos possuem agentes que acabam por inviabilizar o processo de reparação dos danos celulares ocorridos, não proporcionando condições adequadas para a multiplicação celular. Segundo os relatos de Shintani (2006), as células injuriadas apresentam uma extensão da fase lag, fase de adaptação da curva de multiplicação microbiana, quando comparada com células não injuriadas. Esta extensão da fase lag é necessária para a reparação dos danos sofridos e síntese de proteínas e ácidos nucleicos, necessários à multiplicação dos microrganismos.

## Fatores que interferem na multiplicação de microrganismos

A capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos microrganismos presentes em um alimento depende de fatores que podem estar relacionados ao próprio alimento e até mesmo de fatores relacionados ao ambiente em que esse alimento se encontra. Segundo relatos de Nelluri e Thota (2018), o alimento exerce fortemente um efeito bacteriostático e até mesmo bactericida sobre os microrganismos, justamente por utilizar-se de suas propriedades intrínsecas como a atividade de água (Aa), o pH, o potencial de oxirredução (Eh), composição química do alimento e a exclusão competitiva da microbiota. Além disso, como fatores adicionais para o controle dos microrganismos podem ser citados os fatores relacionados ao ambiente como a temperatura, a composição gasosa do meio e a umidade e, no âmbito industrial, os processamentos tecnológicos dos alimentos. Estes, devem tornar o produto seguro, caso os microrganismos tenham conseguido superar as barreiras do alimento e a do próprio ambiente.

De acordo com Wesche *et al.* (2009) e Machado e Borges (2013) as condições de sobrevivência e multiplicação de microrganismos presentes no alimento e no ambiente podem interferir nas estruturas e funções celulares, afetando diretamente na suscetibilidade às injúrias sofridas. Esses fatores também possuem relação direta no processo de reparação dos microrganismos após a injúria.

### Efeitos e modificações nas células injuriadas

Os microrganismos ao sofrerem injúrias subletais evidenciam características que os diferem das células normais, destacando-se a incapacidade de multiplicação e formação de colônias em meios seletivos, aumento da fase lag, ausência de turbidez em caldo e baixo acúmulo de metabólitos finais (MARCÉN *et al.*, 2019; SHINTANI, 2006). As injúrias promovidas por diversas causas acarretam as modificações celulares, por isso a diferenciação entre as células perante o seu comportamento. As injúrias celulares podem ser expressas como metabólicas, evidenciando a incapacidade das células em se desenvolverem em meios com quantidades mínimas de nutrientes, assim como estruturais, perante a perda da capacidade de se multiplicar e até mesmo sobreviver em meios contendo agentes seletivos como sais biliares, telurito de potássio, desoxicolato de sódio, bismuto sulfito, azida sódica, cloreto de sódio, cristal violeta, verde brilhante e antibióticos (SMELT; BRUL, 2014; WESCHE *et al.*, 2009).

Muitas modificações celulares podem ocorrer nos microrganismos injuriados pela ação de agentes físicos e químicos, incluindo perda de material celular como  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ , aminoácidos, danos na parede celular, membrana citoplasmática, ribossomos, RNA, DNA e enzimas (MARTÍNEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2019).

- **Danos à parede celular:**

As injúrias celulares que afetam a parede celular são mais evidentes em bactérias Gram-negativas, fato este que não exclui a existência de lesões em Gram-positivas, lesões estas mais ligadas ao ácido teicoico, componente importante da parede celular, que está relacionado ao movimento de cátions (íons positivos) entre os meios intracelular e extracelular. Lesões por aquecimento, nos polímeros de ácido teicoico da parede celular, em células de *Staphylococcus aureus* em tampão fosfato, ocasionam perda de  $Mg^{2+}$  e D-alanina (CEBRIÁN; CONDÓN; MAÑAS, 2016). Os organismos Gram-positivos não possuem a membrana externa que compõe a parede celular, porém algumas espécies possuem uma proteína de superfície que possui a propriedade análoga de proteção. Em casos de estresse por congelamento, células de *Lactobacillus bulgaricus* perdem essa proteína de superfície e aumentam a sensibilidade ao Tween 80 (MACKEY, 2000).

A membrana externa em microrganismos Gram-negativos protege a célula contra enzimas digestivas, como por exemplo a lisozima, sais biliares, detergentes, metais pesados e alguns antibióticos, porém devido a sua conformação permite a difusão de alguns nutrientes de baixo peso molecular para o espaço periplasmático para que estes participem do sistema de transportes presente na membrana citoplasmática (WESCHE *et al.*, 2009). Se a membrana externa for danificada, as células se tornam sensíveis e serão incapazes de se multiplicar em meios seletivos contendo sais biliares ou corantes, como por

exemplo, os ágaros MacConkey ou Verde Brilhante (MARCÉN *et al.*, 2017).

Este comportamento é típico de células expostas ao calor, choque pelo frio, congelamento, desidratação e alta pressão (CEBRIÁN; CONDÓN; MAÑAS, 2016; RAMOS *et al.*, 2015). De acordo com os relatos de Tomasula *et al.* (2014), há uma relação forte entre os danos na membrana externa e a perda da viabilidade de células de *Listeria monocytogenes* após tratamento de alta pressão hidrostática.

A perda de lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa que confere patogenicidade às bactérias Gram-negativas (endotoxina), pode ser observada em processos de aquecimento ou congelamento de células de *Escherichia coli* e *Pseudomonas*, devido a desestabilização das ligações iônicas (MACHADO; BORGES, 2013; MARCÉN *et al.*, 2019).

- **Danos na membrana citoplasmática**

De acordo com Wu (2008), a membrana celular caracteriza-se como a estrutura mais afetada, sendo que injúrias acabam resultando no extravasamento de componentes essenciais, principalmente os que possuem absorção entre 260nm, como por exemplo, ácidos nucleicos e 280nm (proteínas), além de  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ , aminoácidos, lipídios e fosfolipídios, levando a um prejuízo no metabolismo celular. Beales (2004) descreve que células de *Escherichia coli* injuriadas por congelamento apresentam perda de ácidos ribonucleicos, peptídios e aminoácidos; já células de *Staphylococcus aureus* após tratamento por calor perdem  $K^+$ , aminoácidos e proteínas. A perda de compostos intracelulares é indicativa de danos na membrana citoplasmática, o que interfere diretamente na possibilidade de reparação e consequente multiplicação de uma célula injuriada (MARTÍNEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2019).

- **Danos aos ribossomos e ao RNA**

A degradação de ribossomos e RNA resulta em perda de componentes essenciais com absorção a 260 nm. Wesche *et al.* (2009) relatam que os ribossomos funcionam como um sensor de condições e de temperatura, evidenciando a ocorrência de tratamento térmico. Sob estresse térmico, as subunidades ribossomais 30S das células injuriadas de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* são danificadas ou até mesmo inativadas, durante a destruição da molécula 16S do RNAr que as compõe.

A injúria térmica causa desnaturação dos ribossomos, tornando-os mais suscetíveis ao ataque pela ribonuclease. O estresse térmico por calor em *Pseudomonas fluorescens* resulta na liberação de material absorvente de 260 nm, presumindo-se ser evidência de degradação do RNA, e posteriormente confirmada por análises colorimétricas. O RNA de *Vibrio parahaemolyticus* foi danificado durante o aquecimento e a síntese de RNA foi necessária para a recuperação da bactéria (CHEN *et al.*, 2019; MILLER *et al.*, 2006).

De acordo com os relatos de Wu (2008), células danificadas por injúria ácida apresentam apenas danos no RNA, se diferenciando dos danos causados por aquecimento e congelamento onde se evidencia o extravasamento de constituintes celulares e componentes essenciais com absorção na faixa de 260 a 280 nm.

O grau de degradação do RNA é dependente da quantidade de  $Mg^{2+}$  perdida, sendo provável que o prejuízo celular seja regulado pelo grau de extravasamento dos componentes celulares, devido a danos na membrana citoplasmática, esta de grande importância na manutenção da viabilidade da célula (WESCHE *et al.*, 2009).

- **Danos ao DNA**

Sob condições de estresse por aquecimento, congelamento, desidratação e acidez, os danos no DNA são manifestados pela quebra ou ruptura da molécula ou apenas de uma única fita do DNA, em consequência da atividade de endonucleases (MACKKEY, 2000; BEALES, 2004). De acordo com os achados de Wesche (2009), a morte de *Escherichia coli* após ter sofrido tratamento por frio está diretamente relacionada com ruptura das duas fitas da molécula de DNA e com a provável perda de  $Mg^{2+}$ , fator este essencial para a DNA ligase na síntese e reparação do DNA.

- **Danos a enzimas**

Vários tratamentos, destacando-se o aquecimento, conduzem a inativação de enzimas e a perturbação no transporte ativo de cátions, açúcares e aminoácidos. Segundo relatos de Wu (2008), as células de *Staphylococcus aureus* após sofrerem estresse por calor, têm sua capacidade de catabolismo diminuída e uma significativa redução das atividades de algumas enzimas importantes no metabolismo da glicose. Miller *et al.* (2006) observaram que a atividade das enzimas coagulase e nuclease termoestável foi reduzida, após sofrerem tratamentos térmicos. A inativação da catalase e a superóxido dismutase em *Listeria monocytogenes* por ação do calor, tornou-as sensíveis ao  $H_2O_2$  e ao superóxido, levando a geração de radicais hidroxil ( $OH\cdot$ ) (CHANG; MILLS; CUTTER, 2003; TOMASULA *et al.*, 2014).

- **Reparação em células injuriadas**

As células injuriadas quando mantidas sob condições favoráveis apresentam a capacidade de reparação, retornando assim ao estado fisiológico normal, podendo dar início a fase de multiplicação celular. A restauração da perda de capacidades em células injuriadas pode ser denominada como reativação, visto que as células se mostram aparentemente inviabilizadas neste período (WU, 2008; SMELT; BRUL, 2014).

A fase de reparação celular pode ser estimada pelo tempo de extensão da fase lag ou pelo método diferencial de contagem a ser empregado, porém deve-se levar em consideração que as células apresentam características individuais, podendo apresentar diferentes tipos e graus

de injúrias (WESCHE *et al.*, 2009). Utilizando-se de meios não-seletivos, a fase lag é o tempo necessário para que os microrganismos restabeleçam suas características e iniciem a fase de divisão celular. Os métodos de contagem diferenciais utilizam-se de meios seletivos que contêm substâncias inibitórias aos microrganismos injuriados. Já os meios não seletivos proporcionam um ambiente favorável para a fase de reparação celular, devido à inexistência de fatores que prejudiquem os microrganismos injuriados (MARCÉN *et al.*, 2019).

Inicialmente, a fase de recuperação celular era realizada em meios líquidos, talvez pela percepção de que nesse meio poderia ocorrer um período de incubação mais eficiente, porém mais tarde, observou-se que a restauração poderia ocorrer também em meios sólidos (MACHADO; BORGES, 2013; WU, 2008). Essa fase de reparação é importante para que as células se recuperem das injúrias sofridas, retomem sua capacidade de resistência aos compostos seletivos e que os métodos diferenciais de contagem possam ser utilizados (WESCHE *et al.*, 2009).

Muitos processos metabólicos ocorrem durante a fase de recuperação celular destacando-se a síntese de DNA, RNA, ATP, proteínas, fosfolipídios, a reorganização de macromoléculas como os lipopolissacarídeos presentes em bactérias Gram-negativas e o ácido teicoico em bactérias Gram-positivas. A reparação da membrana citoplasmática pela síntese de lipídios é um dos processos mais rápidos que ocorrem, visto a importância da estrutura no equilíbrio osmótico das células (WESCHE *et al.*, 2009). Os ribossomos degradados durante os tratamentos térmicos são regenerados e a reparação da membrana desta organela parece ser essencial para recuperação, pelo menos a partir de injúrias por calor, congelamento, desidratação e irradiação (WU, 2008).

A maioria das células injuriadas necessita de um período de 2 a 4 horas para a fase de reparação celular, destacando-se também a importância de uma temperatura de incubação adequada e um meio de cultura não-seletivo, rico em nutrientes (WU, 2008). Porém, de acordo com os relatos de Wesche *et al.* (2009), alguns microrganismos após terem sofrido injúrias intensas, necessitam de longos períodos para efetuarem a reparação celular, citando uma faixa de 4 a 5 horas para a recuperação. Essa variação pode ocorrer, pois as injúrias brandas são reparadas mais rapidamente, tendo assim uma fase lag mais curta quando comparada com células que sofreram injúrias intensas. Os autores observaram também, que células de *Campylobacter jejuni*, submetidas ao choque por calor quando em tampão fosfato de potássio a 46°C por 45 min., necessitaram de incubação por 4 horas a 37°C para realizar a fase de reparação celular. Já os danos celulares de *Escherichia coli*, causados por acidificação do meio (tampão acetato de sódio, com pH 4,2 por 60 min.) foram reparados após 1 a 2 horas a 32°C tanto em caldo Tripticase de Soja (TSB) quanto em tampão fosfato de potássio (pH 8,0), apresentando índices de 95% de recuperação celular (WESCHE *et al.*, 2009).

Marcén *et al.* (2017) relatam que células de *Escherichia coli* quando submetidas a injúrias por congelamento e alcalinidade no meio também apresentam recuperação quando incubadas em tampão fosfato.

As injúrias celulares acarretam prejuízos aos agentes patogênicos eliminando sua capacidade de causar doença, no entanto, uma vez que as células são reparadas, a patogenidade é totalmente restaurada (MACHADO; BORGES, 2013).

De acordo com as observações de Wu (2008) e Wesche *et al.* (2009), a natureza do estresse imposto sobre um microrganismo não influencia na reparação das lesões, porém a incubação deve ser feita em condições adequadas. Durante a fase de incubação, o período e a faixa de temperatura necessários para a reparação celular irão variar de acordo com o microrganismo envolvido e com os diferentes graus de injúrias sofridas. As células podem se recuperar completamente, inclusive sua virulência e, principalmente a resistência aos agentes seletivos presentes em meios de cultura seletivos. Sabe-se que o processo de reparação celular antecede a fase de multiplicação celular, portanto, é desejável permitir que os microrganismos injuriados tenham seus danos reparados antes do isolamento ou enumeração por procedimentos habituais.

#### Métodos de reparação de microrganismos injuriados

Um método ideal para detecção de microrganismos em alimentos ou no ambiente deve ser capaz de proporcionar condições adequadas tanto para organismos normais, quanto para os injuriados (WU, 2008). Muitos dos métodos utilizados para o isolamento e contagem de microrganismos nos alimentos, meios seletivos, não permitem a reparação das células injuriadas, não conseguindo assim detectá-las. Compostos seletivos como os agentes ativos de superfície, ácidos, sais, antibióticos e corantes são adicionados aos meios sólidos e líquidos para a seleção, detecção diferencial de microrganismos patogênicos, deteriorantes e outros presentes no alimento, podendo inibir a recuperação dos injuriados. Assim, esses meios só devem ser utilizados quando as injúrias tiverem sido reparadas (MACHADO; BORGES, 2013; WU *et al.*, 2006).

Um dos inconvenientes dos ágaros não seletivos é que eles permitem a multiplicação de microrganismos normais e injuriados, levando assim a resultados contraditórios, pois não se pode diferenciar os agentes patogênicos alvo a partir de uma população mista. Wesche *et al.* (2009) relatam que a suplementação de meios seletivos com alguns nutrientes específicos permite que as células injuriadas recuperem suas habilidades e se multipliquem.

Os métodos desenvolvidos para permitir a reparação de microrganismos injuriados, antes da exposição a um meio seletivo, devem levar em consideração que as células injuriadas ficam sensíveis aos compostos presentes em meios seletivos por um período limitado. A sensibilidade a agentes seletivos está relacionada aos consequentes

danos sofridos pela membrana citoplasmática das células, lesões estas de caráter reversível, podendo ser reparadas em um meio não seletivo e rico em nutrientes. Após a reparação, as células injuriadas conseguem recuperar sua resistência a meios seletivos e principalmente sua capacidade de multiplicação (SMELT; BRUL, 2014; WU, 2008).

Os métodos de reparação podem ser realizados em meios líquidos (caldos) ou sólidos. O método líquido de reparação é eficiente como passo inicial para outras técnicas como a de determinação do número mais provável (NMP) e isolamento de patógenos e bactérias indicadoras de diferentes tipos de alimentos. Os métodos sólidos de reparação podem ser utilizados diretamente para a enumeração de organismos, normalmente pela contagem em placas (BACK *et al.*, 2012).

Levando-se em consideração a capacidade de recuperação dos danos subletais e da viabilidade dos microrganismos, uma hipótese interessante seria a utilização do próprio alimento como meio de reparação celular, já que nestas condições as células injuriadas estariam expostas aos fatores intrínsecos e extrínsecos inerentes ao alimento habitual. É válido ressaltar que esta seria uma estratégia desafiadora considerando as necessidades e habilidades adaptativas de cada microrganismo bem como das particularidades dos alimentos.

#### CONCLUSÕES

O reconhecimento de que os diversos processamentos tecnológicos sobre os alimentos não são efetivos na eliminação total dos microrganismos presentes nos alimentos, e que a presença de células injuriadas deve ser considerada como um potencial de risco reforça a ideia de que os microrganismos injuriados nos alimentos não devem ser ignorados.

As células danificadas são capazes de se reparar e produzir toxinas, mas antes da fase de recuperação celular podem escapar no processo de detecção, pois não se desenvolvem em meios seletivos, empregados na metodologia tradicional da Microbiologia de Alimentos.

A qualidade microbiológica dos alimentos é fundamental para a saúde pública e a necessidade de identificação do grau de contaminação real dos alimentos é necessária para que se estabeleça recomendações e se aplique medidas de controle para a garantia da segurança alimentar.

#### REFERÊNCIAS

- BACK, K. H. *et al.* Spray Method for Recovery of heat-injured *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes*. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.75, n.10, p.1867-1872, 2012. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-11-512
- BEALES, N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. **Compr Rev. Food Sci F.**, Chicago, v. 3, p.1-20, 2004.
- CEBRIÁN, G., CONDÓN, S., MAÑAS, P. Influence of growth and treatment temperature on *Staphylococcus aureus* resistance to pulsed electric fields. Relationship with membrane fluidity. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, Amsterdam, v.37, p.161-169, 2016.

- CHANG, V. P.; MILLS, E. W.; CUTTER, C. N. Comparison of recovery methods for freeze-injured *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Campylobacter coli* in cell suspensions and associated with pork surfaces. **J. Food Prot.**, Des Moines, v. 66, n. 5, p.798-803, 2003.
- CHEN, J. *et al.* Oxidative stress adaptation improves the heat tolerance of *Pseudomonas fluorescens* SN15-2. **Biol Control.**, Orlando, v.138, p. 104070, 2019.
- IORDACHE, F. *et al.* Nanostructured materials for prolonged and safe food preservation. **Food Preservation**, 305-335, 2017. DOI:10.1016/b978-0-12-804303-5.00009-2
- LUSHCHAK, V.I. Adaptive response to oxidative stress: bacteria, fungi, plants and animals. **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.**, Oxford, v.153, p. 175-190, 2011.
- MACKEY, B. M. Injured bacteria. *In*: LUND, A. M.; BAIRD-PARKER, T. C.; GOULD, G. W. **The microbiological safety and quality of food**. New York: Springer, 2000. v. 1. cap. 15. p.315-354.
- MACHADO, T. F.; BORGES, M.F. **Injúria microbiana em alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.13p.
- MARCÉN, M. *et al.* Oxidative stress in *E. coli* cells upon exposure to heat treatments. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 241, p.198-205, 2017.
- MARCÉN, M. *et al.* Cellular events involved in *E. coli* cells inactivation by several agents for food preservation: a comparative study. **Food Microbiol.**, London, v. 84, p. 103246, 2019.
- MARTINEZ-CHÁVEZ, L. *et al.* Effect of single and combined chemical and physical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 attached to Valencia oranges. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v.300, n.2, p.22-30, 2019.
- NELLURI, K. D.; THOTA, N. S. Challenges in Emerging Food-Borne Diseases. **Food Safety and Preservation**, 231-268, 2018.
- RAMOS, S.J. *et al.* Effect of high pressure treatment on inactivation of vegetative pathogens and on denaturation of whey proteins in different media. **LWT – Food Sci. Technol.**, London, 63, 732-738, 2015.
- SHINTANI, H. Importance of considering injured microorganisms in sterilization validation. **Biocontrol Sci. Technol.**, Oxford, v.11, n.3, p. 91-106, 2006.
- SMELT, J.; BRUL, S. Thermal inactivation of microorganisms. **Crit. Ver. Food Sci. Nutr.**, Boca Raton, v.54, p.1371-1385, 2014.
- TOMASULA, P.M. *et al.* Effect of high-pressure processing on reduction of *Listeria monocytogenes* in packaged Queso Fresco. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 97, n.3, p. 1281-95, Mar. 2014.
- WESCHE, A. M. *et al.* Stress, sublethal injury, resuscitation and virulence of bacterial foodborne. **J. Food Prot.**, Des Moines, v. 72, n. 5, p.1121-1138, 2009.
- WU, V. C. H. A review of microbial injury and recovery methods in food. **Food Microbiol.**, London, 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. **J. Food Saf.**, Westport, v. 26, n.2, p.1260-2136, Mai 2006.

Submetido em: 08/12/2019

Aceito em: 04/02/2021