



MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Aline Pedrosa de Oliveira^{1*}, Cintia Silva Minafra Rezende² Marília Cristina Sola¹,
Janaina Costa Feistel¹, Julierme José de Oliveira³

¹ Doutoranda, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

² Doutora, Professora adjunta na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

³ Mestrando, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil

*aline_pdo@hotmail.com

Recebido em: 30/09/2013 – Aprovado em: 08/11/2013 – Publicado em: 01/12/2013

RESUMO

Microbiologia preditiva descreve, de forma quantitativa, os efeitos de fatores intrínsecos (atividade de água, potencial redox, pH) e fatores extrínsecos (temperatura, umidade relativa, atmosfera) no crescimento ou inativação dos microrganismos nos alimentos. Para tanto, são construídos modelos matemáticos derivados de estudos quantitativos sob dadas condições experimentais, gerando curvas de crescimento/inativação microbiana. Estes modelos matemáticos permitem prever a influência de cada fator sobre o crescimento do microrganismo em questão. Ao variar condições como pH, teor de sal no alimento, ou tempo e temperatura de armazenamento do mesmo, é possível determinar se haverá aumento da contaminação nas condições testadas a um nível que possa ameaçar a saúde da população. As vantagens dos modelos preditivos na microbiologia de alimentos são inúmeras e incluem: descrever o comportamento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, permitir a previsão das consequências microbiológicas na estocagem de alimentos, avaliar a eficiência da higiene do processamento e distribuição, determinar o efeito de falhas nas condições de armazenamento, prever a segurança microbiológica de um produto, prever a vida de prateleira, auxiliar na análise de perigos e pontos críticos de controle, no desenvolvimento de novos produtos, auxiliar na tomada de decisões e na análise de risco. Tais modelos são desenvolvidos e aplicados a uma ampla gama de alimentos, reduzindo desta forma a quantidade de testes microbiológicos necessários para o desenvolvimento de novos produtos, além de realizar rapidamente previsões de inocuidade e validade comercial, apresentando benefícios econômicos em longo prazo. Por esta razão, a microbiologia preditiva tem sido estudada e utilizada no sentido de favorecer e garantir a segurança microbiológica dos alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: análise de risco, microbiologia preditiva, segurança alimentar

PREDICTIVE MICROBIOLOGY

ABSTRACT

Predictive microbiology describes, quantitatively, the effects of intrinsic factors (water activity, redox potential, pH) and extrinsic factors (temperature, relative humidity, atmosphere) on the growth or inactivation of microorganisms in food. Therefore, mathematical models are constructed derived from quantitative studies under given experimental conditions, generating growth curves / microbial inactivation. These mathematical models are capable of predicting the influence of each factor on the growth of micro-organisms. By varying conditions as pH, salt content in food, or time and temperature of storage of the same, its possible to determine if there will be increased contamination under the conditions tested at a level that may threaten the health of the population. The advantages of predictive models in food microbiology are numerous and include: describing the behavior of microorganisms in different physico-chemical conditions, allowing the prediction of the consequences in microbiological food storage, hygiene evaluate the efficiency of the processing and distribution, to determine the effect failures of the storage conditions, predict the microbiological safety of a product, predicting shelf life, assist in hazard analysis and critical control points in the development of new products, assist in decision-making and risk analysis. Such models are developed and applied to a wide range of foods, thereby reducing the amount of microbiological tests required for the development of new products, and perform fast predictions of safety and validity commercial, featuring long-term economic benefits. For this reason, predictive microbiology has been studied and used in order to promote and ensure the microbiological safety of foods.

KEYWORDS: Risk analysis , security food, Predictive microbiology

INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças veiculadas por alimentos (DVA) é cada vez mais frequente, atingindo um número cada vez maior de indivíduos, o que pode ser observado pela ocorrência de surtos relatados em todo o mundo.

Segundo dados de 2011 do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Center Disease Control, CDC), 48 milhões de pessoas são acometidos por DVA's nos Estados Unidos da América a cada ano, resultando em mais de 128.000 hospitalizações e aproximadamente 3.000 mortes ao ano (CDC, 2007). No Brasil, 8.663 surtos foram notificados entre 2000 e 2011, atingindo 163.425 pessoas, das quais 112 vieram a óbito (BRASIL, 2012).

Quando se trata da verificação da qualidade dos alimentos, a avaliação microbiológica é de extrema relevância, pois fornecem informações quanto às condições de processamento, armazenamento, distribuição, vida útil e risco à saúde da população (FRANCO & LANDGRAF, 2004).

A capacidade dos micro-organismos em se adaptar rapidamente a mudanças, devido à plasticidade da velocidade de reprodução e aquisição de novos genes, permite a colonização de quase todos os "habitats", possibilitando a emergência e reemergência de patógenos veiculados por alimentos (LEDERBERG, 1997). O acúmulo de informações quantitativas sobre o comportamento microbiano em alimentos (microbiologia preditiva) e uma maior compreensão da fisiologia microbiana, são fatores de extrema relevância, favorecendo a tomada de decisões

de forma pró-ativa, na antecipação e prevenção de emergências e na melhoria da capacidade de resposta a novas ameaças microbianas (BUCHANAN, 1997; McMEEKIN et al., 1997).

Microbiologia preditiva surgiu neste sentido, como um elemento essencial à microbiologia de alimentos moderna, tendo sido estudada e utilizada no sentido de favorecer a qualidade e a segurança microbiológica dos alimentos. Permitindo prever a resposta de crescimento do micro-organismo frente a variações de fatores como exemplo temperatura, condições de armazenamento, umidade e pH. O que permite analisar riscos, avaliar vida de prateleira, desenvolver novos produtos e processos, aliando ações na tomada de decisão.

MICROBIOLOGIA PREDITIVA

O primeiro relato de utilização da microbiologia preditiva foi descrito em 1922, quando ESTY & MEYER descreveram a morte térmica dos esporos de *Clostridium botulinum* tipo A por um modelo linear. Esse modelo denota que a uma determinada temperatura, a relação entre taxa de mortalidade da bactéria com o tempo é constante (BARANYI & ROBERTS, 1994).

A partir da década de 80 houve um acentuado interesse pela microbiologia preditiva em decorrência de surtos de toxinfecções alimentares, elevando conseqüentemente a consciência da necessidade da produção de alimentos seguros. A presença de patógenos em alimentos, como *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, contribuiu para a priorização de pesquisas relacionadas à segurança dos alimentos por parte dos governos dos Estados Unidos da América, Reino Unido, outros países da União Europeia, corroborando para o desenvolvimento da microbiologia preditiva (McMEEKIN et al., 2002).

O comportamento dos micro-organismos (crescimento, sobrevivência e morte) é determinado pelas propriedades dos alimentos (fatores intrínsecos como, atividade de água, potencial redox e pH) e por condições externas (fatores extrínsecos como temperatura, umidade relativa e atmosfera) (NAKASHIMA et al., 2000).

A microbiologia preditiva descreve, de forma quantitativa, os efeitos destes fatores (intrínsecos e extrínsecos) no crescimento ou inativação dos micro-organismos nos alimentos. Para tanto, são construídos modelos matemáticos derivados de estudos quantitativos dos micro-organismos sob dadas condições experimentais, gerando curvas de crescimento/inativação microbiana (DANNENHAUER, 2010).

Em outras palavras, estes modelos são obtidos a partir de estudos, onde é realizada a determinação do crescimento microbiano, ao longo de um tempo delimitado sob condições como, temperatura, pH, e meio são conhecidas e controladas. O tratamento destes dados permite obter uma equação matemática que poderá prever o tempo de ajuste ao meio (fase *lag*) e/ou a velocidade máxima de crescimento (ANASTÁCIO, 2009), podendo ser então, extrapolados para os alimentos, baseado na premissa de que as respostas das populações de micro-organismos aos fatores ambientais que afetam seu crescimento e sobrevivência são reprodutíveis, tornando possível a partir de observações anteriores, prever as respostas microbianas em outros ambientes semelhantes (FAKRUDDIN et al., 2011).

Os modelos matemáticos preditivos permitem prever a influência de cada fator sobre o crescimento do micro-organismo em questão. Ao variar condições como pH, teor de sal no alimento, ou tempo e temperatura de armazenamento do

mesmo, é possível determinar se haverá aumento da contaminação nas condições testadas a um nível que possa ameaçar a saúde da população (SOBOLEVA et al., 2000; DANNENHAUER, 2010).

WANG et al., (2012) avaliaram o efeito da umidade relativa e da temperatura sobre o comportamento de *Escherichia coli* O 157: H7 em alface. Por meio da utilização de modelos preditivos, foi possível verificar que variações na temperatura foram mais influentes no crescimento de *E. coli* O 157: H7 do que as mudanças ambientais de umidade.

Entretanto, a microbiologia preditiva apresenta algumas limitações que precisam ser consideradas. Como exemplo, observa-se que os modelos preditivos não podem ser extrapolados para condições nas quais os intervalos de temperatura e atividade de água estejam fora das condições de que foram derivados. Previsões fora dos intervalos experimentais geralmente não são exatas. As simulações frequentemente são realizadas em ambiente laboratorial, e validadas em alimentos, razão pela qual podem ocorrer estas imprecisões. Portanto, é necessária grande cautela na seleção e utilização de modelos, que devem ser acompanhados de descrição das suas limitações, para quais micro-organismos em específico foram desenvolvidos e quais fatores foram testados e considerados para aquele modelo. Neste sentido, o usuário deve estar ciente de que o uso para situações não simuladas poderá gerar respostas que não refletem a realidade (FAKRUDDIN et al., 2011).

Como exemplo, MACKEY & KERRIDGE (1988) citaram que modelos desenvolvidos para condições estáticas não podem ser aplicados quando condições ambientais como temperatura, pH, atmosfera gasosa e umidade possam sofrer variações.

Dificuldades foram relatadas por BAEZA et al. (2009) ao tentarem prever o crescimento de *Staphylococcus aureus* em um produto cárneo pasteurizado mantido à temperatura ambiente durante várias horas e durante três dias. O experimento foi realizado simultaneamente em cinco cidades mexicanas, a fim de avaliar o efeito das condições de temperatura. Ao final do experimento constatou-se que a predição das curvas de crescimento não foi precisa em virtude da grande oscilação de temperatura apresentada no decorrer do dia. Entretanto, os autores utilizaram equações desenvolvidas a partir de experimentos em condições constantes de temperatura, se modelos dinâmicos (ou seja, modelos que consideram essas variações) tivessem sido utilizados, como o modelo de CORRADINI & PELEG (2005), possivelmente seria possível uma predição mais precisa do crescimento de *Staphylococcus aureus*.

De modo geral, os modelos preditivos avaliam parâmetros cinéticos de crescimento, dentre eles: (λ) duração da fase lag; (μ) velocidade específica máxima de crescimento (velocidade que a população duplica dentro da fase exponencial) e (A) densidade populacional máxima de crescimento final (maior contagem microbiana, na fase estacionária) (BATY & DELIGNETTE-MULLER, 2004). Segundo DALGAARD & KOUTSOUMANIS (2001), a estimativa destes parâmetros é essencial na otimização de meios microbiológicos, no desenvolvimento de modelos cinéticos utilizados nas tecnologias de alimentos e na caracterização de efeitos de antimicrobianos.

A fase lag, ou de latência, é definida como fase de adaptação ao novo meio onde o micro-organismo se encontra, podendo durar de uma hora a vários dias (MASSAGUER, 2006; TORTORA et al., 2012). Esta etapa é bastante imprevisível, tendo sua duração afetada por fatores como fenótipo da bactéria, tamanho do

inóculo, estado fisiológico da população e por alterações físico-químicas no ambiente tais como a temperatura, pH, atividade de água, e a disponibilidade de nutrientes (McMEEKIN et al., 2002). Cabe salientar que o tempo de latência é inversamente proporcional à taxa de crescimento específica máxima (SMITH, 1985, BARANYI & ROBERTS, 1994).

Na fase log, ou de crescimento exponencial, encontra-se o momento de maior atividade metabólica. A duplicação ocorre de forma constante e o crescimento é exponencial em função do tempo, resultando na representação gráfica, uma linha reta cuja inclinação representa o μ_{Max} (velocidade de crescimento máximo) (MASSAGUER, 2006; FORSYTHE, 2007; TORTORA et al., 2012).

A determinação da densidade populacional máxima de crescimento final é obtida durante a fase estacionária, momento no qual a velocidade de crescimento é igual à velocidade de morte, havendo estabilização do tamanho da população (MASSAGUER, 2006).

Sabe-se que o processo de deterioração dos alimentos, decorrente da multiplicação de micro-organismos ocorre durante as fases lag e exponencial. Diante disso, metodologia preditiva utiliza estas etapas principalmente para fornecer maiores informações sobre o comportamento microbiano em diferentes situações, dando subsídio a segurança e qualidade dos alimentos (NAKASHIMA et al., 2000).

As vantagens dos modelos preditivos na microbiologia de alimentos são inúmeras e incluem: descrever o comportamento de micro-organismos em diferentes condições físico-químicas, permitir a previsão das conseqüências microbiológicas na estocagem de alimentos, avaliar a eficiência da higiene do processamento e distribuição, determinar o efeito de falhas nas condições de armazenamento, prever a segurança microbiológica de um produto, prever a vida de prateleira, auxiliar na análise de perigos e pontos críticos de controle, no desenvolvimento de novos produtos e na análise de risco (BARANYI & ROBERTS, 1994; NEUMEYER et al., 1997).

Ressalta-se que quando se trata de análise de risco, a aplicação da modelagem para patógenos de origem alimentar é bastante útil, pois permite estimar a probabilidade de um alimento causar doença em um indivíduo (NAKASHIMA et al., 2000).

A aplicação da microbiologia preditiva para segurança do alimento tem como base a equação: $H_0 - \sum R + \sum 1 \leq FSO$, descrita pela comissão internacional de especificações microbiológicas para alimentos (ICMSF). De forma descritiva, H_0 corresponde à soma do nível de contaminação inicial, $\sum R$ à soma das reduções decimais e $\sum 1$ à soma dos aumentos decimais de carga microbiana. O resultado da equação deve ser inferior àqueles pré-estabelecidos para um determinado micro-organismo (ANASTÁCIO, 2009).

Ao permitir simular diferentes condições de abuso no produto acabado, a utilização de modelos preditivos pode auxiliar na determinação de sua vida de prateleira (NAKASHIMA et al., 2000). A predição do prazo de validade de um produto alimentício é vantajosa, pois minimiza os riscos de perdas de alimentos ainda apropriados para o consumo, devido a curta estimativa de validade, além de reduzir o risco de comercializar produto já deteriorado (McMEEKIN, 1996).

O controle da qualidade baseado na inspeção do produto final, tradicionalmente realizado por amostragens e testes laboratoriais com micro-organismos de interesse, patogênicos e deteriorantes, pode não ser tão eficiente. Tendo sido considerada onerosa e demorada, não possibilitando a tomada de medidas preventivas de contaminação. Além disso, o conhecimento adquirido não é

cumulativo e quando uma formulação do produto, ou a temperatura sofrem alterações, os testes de controle devem ser repetidos. Diante destas dificuldades observou-se um aumento na demanda por modelagens matemáticas (BARANYI & ROBERTS, 1995; TIJSKENS et al., 2001).

É importante ressaltar que as análises microbiológicas não podem ser substituídas, sendo a microbiologia preditiva uma ferramenta adicional na busca pela garantia da segurança alimentar. Estes modelos são desenvolvidos e aplicados a uma ampla gama de alimentos, reduzindo desta forma a quantidade de testes microbiológico necessários para o desenvolvimento de novos produtos, além de realizar rapidamente previsões de inocuidade e validade comercial, apresentando benefícios econômicos em longo prazo (McMEEKIN et al., 2002).

Os modelos preditivos aplicados ao desenvolvimento de produtos são vantajosos, pois as consequências microbianas decorrentes de alterações na composição ou processamento podem ser avaliadas rapidamente (NAKASHIMA et al., 2000).

A microbiologia preditiva tem se mostrado um excelente recurso à elaboração de planos de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Auxiliando o processo de implementação dos protocolos, identificando os perigos, designando os pontos críticos de controle e estabelecimento de ações corretivas quando necessário (VERSYCK et al., 1999; McMEEKIN et al., 2002; VAN IMPE et al., 2013).

Os limites críticos especificados para um determinado perigo microbiológico podem sofrer alterações. A justificativa das ações corretivas pode ser reforçada apresentando resultados de simulações rápidas e seguras quanto a resposta dos micro-organismos a determinadas condições. Além de auxiliar na tomada de decisões (McCLURE et al., 1994; NAKASIMA et al., 2000; ANASTACIO, 2009).

Na Figura 1 é possível observar a utilização da microbiologia preditiva na tomada de decisão.

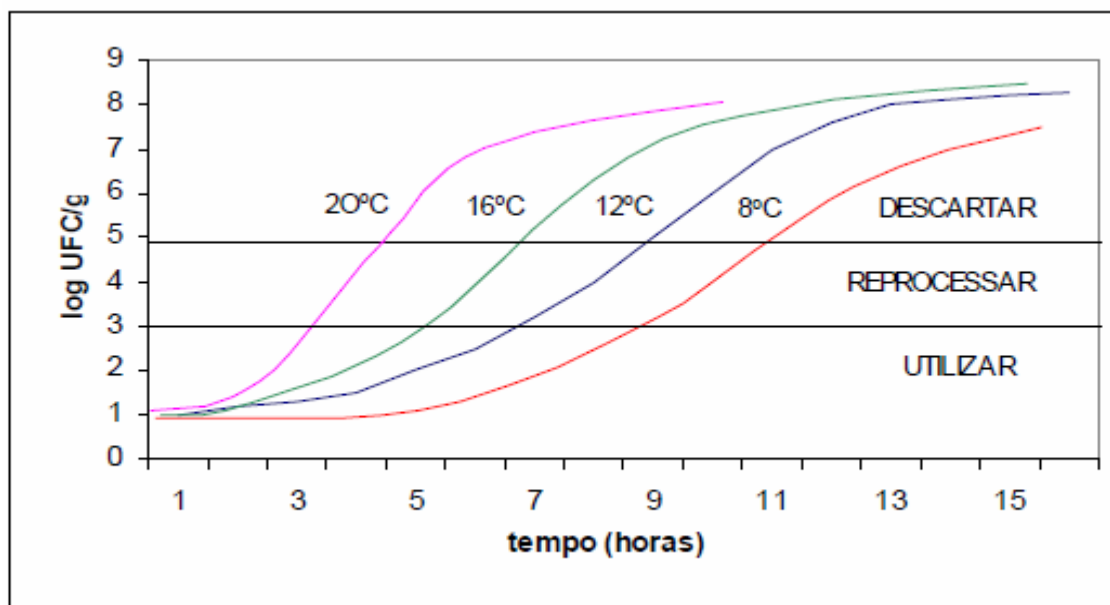


FIGURA 1 - Representação da relação entre curvas de crescimento microbiano a diferentes temperaturas e os possíveis destinos de um alimento.

Fonte: NAKASIMA et al., 2000.

A partir do gráfico gerado é possível observar, por exemplo, que a 20°C, em

um período de quatro horas os micro-organismos atingem níveis críticos de multiplicação, sendo recomendado o descarte do produto. Este exemplo reforça a importância da microbiologia preditiva, como ferramenta auxiliar na tomada de decisões.

MODELOS PREDITIVOS

Os modelos preditivos podem ser definidos como equações matemáticas que descrevem o crescimento, sobrevivência, inativação ou processo bioquímico de um dado micro-organismo, sob determinadas condições (McDONALD & SUN, 1999).

Os modelos preditivos podem ser divididos em duas categorias, mecanísticos ou determinísticos e empíricos. Os modelos mecanísticos descrevem, com base teórica, a resposta microbiana. No entanto, estes modelos são raros, não se ajustando facilmente devido à complexidade da fisiologia microbiana. Por sua vez, os modelos empíricos descrevem um conjunto de dados por meio de uma relação matemática conveniente, que melhor se ajusta a fisiologia microbiana, sendo os modelos mais utilizados (KRIST et al., 1998; McMEEKIN et al., 2002).

Os modelos empíricos podem ser classificados em modelos cinéticos e probabilísticos. Os modelos cinéticos são baseados no estudo do comportamento da população microbiana, crescimento, velocidade de crescimento ou destruição de micro-organismos de interesse, em função do tempo (NAKASHIMA et al., 2000). Estes modelos são recomendados quando se tratam de micro-organismos patogênicos não produtores de toxina e para deteriorantes (ROBERTS, 1992).

Os modelos probabilísticos prevêm a probabilidade da ocorrência de determinado evento, como exemplo, a germinação de esporos ou a formação de toxinas, em um determinado período de tempo (NAKASHIMA et al., 2000). Os mesmos são utilizados em situações onde o crescimento do micro-organismo de interesse é intolerável, assegurando que a chance de resolução da fase lag ou germinação dos esporos seja insignificante (ROSS & McMEEKIN, 1994).

Em 1993 WHITING & BUCHANAN propuseram a classificação dos modelos em primários, secundários e terciários. Os modelos primários correspondem a modelos matemáticos que descrevem o crescimento ou as respostas microbianas em função do tempo. Estas respostas são: quantidade de unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) (medida direta de resposta), densidade, formação de toxinas, níveis de substratos e produtos metabólicos (medidas indiretas de resposta). Uma equação ou função matemática descreve a mudança da resposta ao longo do tempo, sendo retratados sob a forma de curvas de crescimento ou de sobrevivência de micro-organismos (WHITING, 1995; MCDONALD & SUN, 1999; McMEEKIN et al., 2002; KAJAK & KRAJEWSKA, 2006).

Diversos modelos preditivos primários foram desenvolvidos e descritos, como, Função de Gompertz, Função modificada de Gompertz, Modelo Logístico, Modelo Baranyi, Modelo Monod, Modelo Monod modificado, valores D de inativação térmica, Modelo de decréscimo de crescimento de Whiting e Cygnarowicz, Modelo linear de três fases, Modelo de Teleken (McDONALD & SUN, 1999, TELEKEN et al., 2011).

Como exemplo de aplicação, os modelos de nível primário podem ser utilizados para descrever a redução da contagem de UFCs durante um processamento térmico e a formação de toxina microbiana ao longo do tempo (NAKASHIMA et al., 2000).

SLONGO et al., (2009) utilizaram o modelo preditivo de Gompertz modificado para avaliar o comportamento de crescimento de bactérias ácido-láticas e a vida de

prateleira de presunto submetido a processamento de alta pressão hidrostática, tecnologia de preservação alternativa que vem sendo desenvolvida. As amostras de presunto foram submetidas a diferentes pressões hidrostáticas (200, 300 e 400 MPa) e diferentes tempos de retenção (5 - 15 minutos). O modelo preditivo foi utilizado para determinar a vida de prateleira, a duração da fase lag e a velocidade máxima de crescimento, conforme pode ser visualizado da Tabela 1.

TABELA 1- Parâmetros de crescimento microbiano (μ e λ) e prazo de validade do produto (t_{sl}) obtido pelo modelo Gompertz Modificado de curvas de crescimento de bactérias ácido-láticas em presunto fatiado embalados a vácuo tratada por alta pressão hidrostática e amostras não tratadas (controle), armazenado a 8 °C

Tratamentos	Fatores		Respostas		
	Pressão (MPa)	Tempo (min)	t_{sl} (dia)	μ (dia)	λ (dia)
1	200	05	47	0,24	13
2	200	15	45	0,21	14
3	400	05	80	0,13	30
4	400	15	85	0,21	55
5	300	10	61	0,21	30
6	300	10	55	0,19	22
7	300	10	58	0,21	26
Controle	-	-	19	1,00	11

t_{sl} - tempo para atingir 10^7 CFU / g - final do período de vida útil do produto.

μ - velocidade máxima de crescimento

λ - duração fase lag

A avaliação por meio do modelo preditivo permitiu constatar que o tratamento a 400 MPa por 15 min obteve maior vida de prateleira e maior duração da fase lag, sendo portanto considerado o melhor tratamento pra conservação do produto.

TELEKEN et al., (2011) desenvolveram um modelo matemático primário derivado da Função de Gompertz para prever o crescimento microbiano no leite. Os autores aplicaram o modelo para dados de crescimento de *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri* e *Bacillus cereus* em produtos lácteos retirados do banco de dados *comBase*. O modelo desenvolvido apresentou bom ajuste, tornando possível estimar os valores da taxa de crescimento máxima e a duração da fase lag, fornecendo informação importante sobre o comportamento dos micro-organismos estudados.

SPERANZA et al., (2012) avaliaram o efeito antimicrobiano da quitosana, extrato da semente de uva e do timol em diferentes concentrações, na inibição de *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens* e *Photobacterium phosphoperum* e no prolongamento do limite de aceitação microbiológica (MAL) de files de dourada. O limite de aceitação microbiológica foi determinado por meio do modelo preditivo de Gompertz, que permitiu observar que o extrato de sementes de uva e timol apresentaram melhores resultados, aumentando o MAL, que a quitosana apresentou pior desempenho e que a *Pseudomonas fluorescens* foi o micro-organismo mais resistente, sendo inibido somente com solução ativa de quitosana a 2% e 6000 ppm de extrato de semente de uva e timol. Reforçando a afirmativa de DALGAARD & KOUTSOUMANIS (2001) de que os modelos preditivos podem ser utilizados na avaliação de efeito antimicrobianos.

Os modelos que descrevem a variação dos parâmetros cinéticos em função da variação de uma condição ambiental são conhecidos como modelos secundários (WHITING, 1995; McDONALD & SUN, 1999; NAKASHIMA et al., 2000; McMEEKIN & ROSS, 2002; MARKS, 2008).

Os principais modelos secundários são: Modelo Belehradek, Modelo Ratkowsky, Modelo Arrhenius, Modelo Modificados de Arrhenius, Modelos probabilísticos, Valores Z, Polinomiais ou resposta, Modelos de superfície, Modelo Williams-Landel Ferry, Modelo log-logístico, Modelo Weibullde, Modelo de Ding (McDONALD & SUN, 1999; CHENG, 2007; DING et al., 2012)

O conhecimento dos parâmetros ambientais que mais influenciam o crescimento microbiano é essencial para o desenvolvimento, bem como para o uso prático dos modelos em questão. Dentre estes parâmetros, a temperatura é fator preponderante, uma vez que a velocidade específica máxima de crescimento e a fase lag são altamente dependentes da temperatura (GIANNUZZI et al., 1998).

Além da temperatura, fatores com pH e aw também devem ser considerados e incluídos em alguns modelos, sendo expressos como concentração de íons de hidrogênio ou conteúdo de sal. Fatores adicionais, presentes em um determinado alimento, que possuam influência significativa no comportamento de um patógeno de interesse, quando não incluídos no modelo a ser utilizado, tornaria a sua aplicação inadequada e provavelmente a previsão seria imprecisa (WHITING, 1997).

Como exemplo, GILL et al. (1991) utilizaram a modelagem preditiva para verificar a eficácia higiênica de operações de processamento de carne, por meio do comportamento de *E. coli*. Entretanto o modelo utilizado baseava-se na resposta da temperatura ignorando outros fatores como atividade de água, fator extremamente importante por limitar o crescimento microbiano em carcaças de carne durante a refrigeração, levando a uma predição imprecisa e possivelmente não condizente ao ocorrido na realidade.

Posteriormente, os modelos para verificação de crescimento de *E.coli* desenvolvidos foram baseados em conjuntos de dados mais amplos e incluem o efeito da atividade de água, pH e concentração de lactato (PRESSER et al., 1997). Este relato enfatiza que o conhecimento é cumulativo possibilitando ajustes posteriores, contribuindo para maior precisão do método (McMEEKIN et al., 2002).

Um modelo preditivo linear primário e os modelos secundários log-logística e Weibullde foram utilizados por CHENG (2007) para descrever curvas de sobrevivência de *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium e *Staphylococcus aureus* inoculados em leite UHT submetido a tratamento por a alta pressão hidrostática. Os autores observaram que os modelos log-logística e Weibullde apresentaram resultados consistentes, podendo ser utilizados para descrever curvas de inativação (Figura 2).

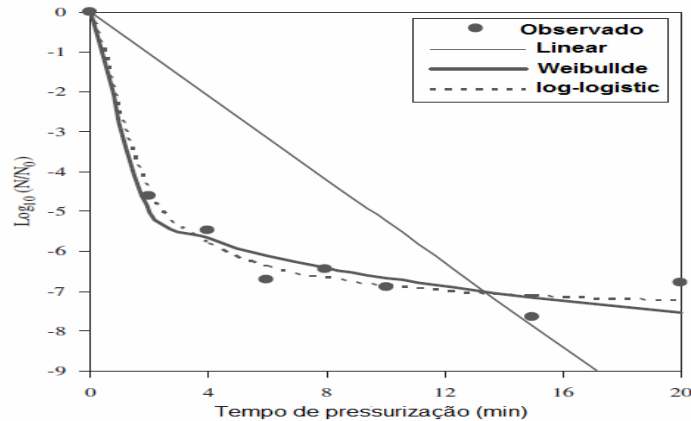


FIGURA 2 – Curvas de inativação de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, obtidas pelos modelos linear, Weibullde e log-logistic (CHENG, 2007).

Modelos preditivos secundários foram desenvolvidos por DING et al., (2012) para avaliar o efeito combinado da temperatura (15, 25 e 35 °C) e umidade relativa (60%, 70% e 80%) no crescimento de *Escherichia coli* O157: H7 em couve. Os modelos desenvolvidos mostraram uma boa concordância entre os valores observados e previstos.

De acordo com os autores, na Coréia este alimento é consumido cru, oferecendo risco à saúde da população. Os modelos desenvolvidos foram capazes de prever o comportamento de *E. coli* O157: H7, podendo ser utilizados para efeitos de avaliação do risco.

Os modelos que estudam o efeito das mudanças das variáveis externas sobre o crescimento microbiano são denominados modelos dinâmicos. Alguns modelos são propostos na literatura entre eles o modelo de VAN IMPE et al. (1995) e o modelo de CORRADINI & PELEG (2005).

Considerando a relação dos fatores intrínsecos e extrínsecos na conservação dos alimentos, verifica-se que a temperatura pode variar amplamente durante o período de estocagem e distribuição de alimentos, ao contrário do pH e da aw que são mais estáveis. Entretanto, a maioria dos modelos preditivos é desenvolvida sob condições de temperatura constante. No entanto, uma abordagem mais geral de modelagem é necessária, considerando fatores como a transferência de calor (VAN IMPE et al., 1992).

Assim, o desenvolvimento de modelos que considerem as variações de temperatura (condições dinâmicas) apresenta-se de grande valia na previsão de vida útil sob condições reais da cadeia de frio (KOUTSOUMANIS et al., 2006; CAYRÉ et al., 2007).

Expressões matemáticas derivadas de modelos empíricos primários e secundários, que descrevem padrões de crescimento isotérmico, podem ser utilizadas e adaptadas para prever padrões de crescimento em condições não-isotérmicas. Os modelos não-isotérmicos podem definir diferentes perfis de temperatura, obtendo predição das curvas de crescimento em condições não isotérmicas (CORRADINI & PELEG, 2005).

Os modelos de VAN IMPE et al., (1995) e CORRADINI & PELEG (2005), têm demonstrado que podem ser utilizados na geração de curvas de crescimento sob

oscilações de temperatura, tendo sido observado que as curvas preditivas geradas foram coerentes aos dados experimentais obtidos (NICOLAI et al., 1995; KOUTSOUMANIS, 2001; FUJIKAWA et al., 2004).

Os modelos terciários são constituídos por programas computacionais que combinam o uso de modelos primários e secundários. Estes programas podem calcular respostas microbianas em diferentes condições, comparar o efeito destas variações ou ainda contrastar o comportamento de vários micro-organismos. Estes aplicativos facilitam a modelagem das curvas de crescimento microbiano sob diferentes condições (WHITING, 1995; McDONALD & SUN, 1999; McMEEKIN et al., 2002; KAJAK & KRAJEWSKA, 2006). É importante ressaltar que este recurso permite o acúmulo contínuo de conhecimento e, como consequência, pode levar ao desenvolvimento de modelos melhores e maior margem para a sua aplicação (McMEEKIN et al., 2002).

Alguns programas computacionais comerciais estão disponíveis de forma gratuita, e fornecem previsões do crescimento microbiano, além da taxa de crescimento ou da fase lag, sob condições definidas (McMEEKIN & ROSS, 2002). O Quadro 1 enuncia alguns dos programas mais conhecidos e utilizados.

QUADRO 1 - Programas informáticos associados à Microbiologia Preditiva, disponíveis na internet.

ComBase Predictor	ComBase Consortium, Food Standards Agency, Institute of Food Research, USDA http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx
Pathogen Modeling Program	USDA ARS Eastern Regional Research Center (ERRC) http://pmp.arserrc.gov/PMPOnline.aspx
Seafood Predictor	Danish Institute for Fisheries Research Microbiology Group http://www.dfu.min.dk/micro/ssp/
Growth Predictor	Web-based version of Perfringens Predictor is now included in the <i>Combase Modelling Toolbox</i> http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/
THERM	The University of Wisconsin Center for Meat Process Validation http://www.wisc.edu/foodsafety/meatresearch
Bacanova Project	European Commission Frame V Programme http://www.ifr.ac.uk/bacanova/default.html
Refrigeration Index	Meat and Livestock Australia http://www.mla.com.au
Sym'Previus	An integrated database and predictive software, in French www.symprevius.net
Food Product Modeller	AgResearch da MIRINZ www.agresearch.co.nz .

Fonte: adaptado de ANASTÁCIO et al., (2009); DANNENHAUER (2010).

O programa comBase Predictor é um dos mais utilizados e de acesso gratuito compreendendo um conjunto de modelos de previsão de resposta de patógeno importante de origem alimentar ou de muitos micro-organismos deteriorantes em função de fatores ambientais, incluindo a temperatura, pH e concentração de sal (COMBASE PREDICTOR, 2012).

ANASTÁCIO (2009) exemplificou a utilização deste programa na simulação do efeito da variação do teor de sal no crescimento de *Staphylococcus aureus* em um produto com pH de 4.5, sob duas temperaturas (10 e 20°C). Verificou-se a partir de gráficos obtidos que os diferentes níveis de sal testados (0, 0.5, 1 e 1.5%) apresentaram poucas diferenças de crescimento entre si, sendo a temperatura mais significativa para o aumento do perigo de crescimento a níveis críticos. O crescimento previsto de *S. aureus* foi de cerca de 8 logs para 20°C e inferior a 1 log para 10°C.

Diversos estudos têm sido realizados com objetivo de desenvolver novos modelos preditivos. INGHAM et al., (2007) desenvolveram o programa THERM, ferramenta computacional desenhada para prever o crescimento de *Escherichia coli* O157: H7, sorovares de *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* em carnes suínas, bovinas e aves cruas em diferentes temperaturas. A precisão do THERM foi testada em 20 experimentos de inoculação que envolveu vários produtos (carne moída grossa, peito de frango sem pele e carne de peru) em diferentes temperaturas. Ao comparar os resultados dos experimentos de inoculação com as previsões obtidas pelo THERM, verificaram uma boa precisão do programa, concluindo que THERM é uma ferramenta útil para predizer qualitativamente o comportamento dos patógenos em carnes cruas.

SILVA et al., (2009) determinaram o crescimento de *Salmonella enterica* subs. *enterica* sorovar Typhimurium inoculadas em alimentos enterais (Soya Diet , Ensure e NIEF-V) utilizados em hospitais, mantidas a 25°C. Os resultados obtidos foram utilizados para validar o modelo matemático de crescimento de *Salmonella* sp. apresentado no Program Modeling Pathogen (PMP versão 7,0). Os parâmetros cinéticos de crescimento fase lag; μ_{max} e densidade máxima de população observados foram semelhantes aos previstos pelo PMP versão 7,0. Demonstrando que este modelo pode ser utilizado para descrever o crescimento de *Salmonella* em dietas enterais, sendo conveniente sua utilização na determinação do comportamento deste patógeno.

Muitos estudos testam a aplicabilidade dos recursos computacionais utilizando bancos de dados produzidos a partir da simulação do crescimento e morte dos micro-organismos. Para todas estas afirmações, pode-se inferir que o campo de ação para a microbiologia preditiva é interdependente das variáveis associadas à matriz alimentar, ao micro-organismo alvo, ao ambiente e aos modelos matemáticos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microbiologia preditiva tem papel importante no controle de tratamentos de preservação, sendo uma ferramenta imprescindível no desenvolvimento de novos processos e produtos.

A variabilidade de respostas dos micro-organismos frente a diferentes alimentos, condições ambientais e processamento justificam a necessidade de desenvolvimento de modelos experimentais apropriados e devidamente validados, que considerem todas as variáveis, para que possam então ser aplicados a condições reais de uso.

A maioria dos modelos desenvolvidos foi baseado em condições estáticas de temperatura, pH e atividade água. No entanto, estas condições não são verificadas na maioria dos processos alimentares. Para tanto, modelos dinâmicos que considerem a variação destes fatores têm sido estudados e desenvolvidos com sucesso, principalmente com o auxílio dos recursos computacionais. No entanto,

ainda existem outras condições que precisam ser avaliadas, como exemplo, a presença de micro-organismos concorrentes no alimento e a quantidade de nutrientes disponível, ressaltando a necessidade da continuidade das pesquisas, a fim de desenvolver ferramentas cada vez mais precisas de predição.

REFERÊNCIAS

ANASTÁCIO, A. Microbiologia Preditiva Alimentar: As sinergias entre a microbiologia, a matemática e as tecnologias da informação. **Segurança e Qualidade Alimentar** [online], n.7, p.56-59, 2009. Disponível em: <http://www.infoqualidade.net/SEQUALI/PDF-Sequali-07/Page%2056-59.pdf> Acesso em: 04 out. 2012

BAEZA, R.; ROSSLER, C.; MIELNICH, D.; ZAMORA, M.C.; CHIRIFE, J. Theoretical modelling of *Staphylococcus aureus* growth in a cooked meat product kept at ambient temperature using temperature profiles of selected Mexican cities. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** [online], v. 29, n. 1, p. 81-84, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n1/v29n1a13.pdf> Acesso em: 31 out. 2012.

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A.A. Dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 23, p. 277-294, 1994. Disponível em: http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_255_11_2_2005.pdf Acesso em: 19 out. 2012.

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A. Mathematics of predictive food microbiology. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 26, p. 199-218, 1995. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/016816059400121L/1-s2.0-016816059400121L-main.pdf?_tid=23f0d4ac-2886-11e2-bec9-0000aab0f6c&acdnat=1352256916_ab5d786ce1cf842c060e9584e4477036 Acesso em: 14 out. 2012.

BATY, F.; DELIGNETTE-MULLER, M.L. Estimating the bacterial lag time: wich model, which precision. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 91, p. 261-277, 2004. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S016816050300429X/1-s2.0-S016816050300429X-main.pdf?_tid=d577bdd2-2875-11e2-9b4a-0000aacb35d&acdnat=1352249913_8311f936051d0c147418a73e37baf5d6 Acesso em: 01 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 – 2004. Boletim eletrônico epidemiológico, ano 05, n. 6, dezembro 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000-2011, 2012.

BUCHANAN, R.L. Identifying and Controlling Emerging Foodborne Pathogens: Research Needs. **Emerging Infectious Diseases** [online], v.3, n.4, p.517-521, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640076/pdf/9366605.pdf> Acesso em:

08 nov. 2012.

CAYRÉ, M.E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. Seleção de um Modelo Primario para Descrever a Curva de Crescimento de Bactérias Lácticas e *Brochothrix thermosphacta* sobre Emulsões Carnícas Cocidas. **Información Tecnológica** [online], v.18, p.23-29, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v18n3/art04.pdf> Acesso em: 30 out. 2012.

CHENG, H. Use of linear, Weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in Milk. **Food Microbiology** [online], v. 24, p. 197-204, 2007. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0740002006001341/1-s2.0-S0740002006001341-main.pdf?_tid=8b1006f8-28db-11e2-8aa3-00000aab0f6c&acdnat=1352293597_366354a61590d7ab5ad3361d94bd0bbd Acesso em: 27 out. 2012.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vision, Mission, Core Values, and Pledge. 2007. Disponível em: <http://www.cdc.gov/about/organization/mission.htm> Acesso em: 12/10/2012.

ComBase Predictor, 2012. Disponível em: http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx Acesso em: 04 nov. 2012.

CORRADINI, M.G.; PELEG, M. Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experiments data. **Journal of Applied Microbiology** [online], v. 99, p. 187-200, 2005. Disponível em: <http://www.aseanfood.info/Articles/11022163.pdf> Acesso em: 12 out. 2012.

DALGAARD, P.; KOUTSOUMANIS, K. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. **Journal of Microbiological Methods** [online], v.43, p.183-196, 2001. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0167701200002190/1-s2.0-S0167701200002190-main.pdf?_tid=0ade62da-2873-11e2-9b24-00000aab0f27&acdnat=1352248714_ff12bebf826020e542af7385ddd51a74 Acesso em: 30 out. 2012.

DANNENHAUER, C.E. **DESENVOLVIMENTO DE UM APLICATIVO COMPUTACIONAL PARA MICROBIOLOGIA PREDITIVA**. 2010. 147f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimento) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DING, T.; WANG, J.; FORGHANI, F.; HA, S.; CHUNG, M.; BAHK, G.; HWANG, I.; ABDALLAH, E.; OH, D. Development of Predictive Models for the Growth of *Escherichia coli* O157:H7 on Cabbage in Korea *Journal of Food Science* [online], v. 77, n. 5, 2012. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2012.02660.x/pdf> Acesso em: 26 out. 2012.

FAKRUDDIN, M.; MAZUMDER, R.M.; MANNAN, K.S.B. Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food. **Ceylon Journal of Science** [online], v. 40, n. 2, p.121-131, 2011. Disponível em: <http://www.sljol.info/index.php/CJSBS/article/view/3928> Acesso em: 08 nov. 2012.

FORSYTHE, J.S. Aspectos básicos. In: FORSYTHE, J.S. **Microbiologia da segurança alimentar**, São Paulo: Artmed, 2007. Cap. 2, p. 21-64.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2004. 182 p.

FUJIKAWA, H.; KAI, A.; MOROZUMI, S. A new logistic model for *Escherichia coli* growth at constant and dynamic temperatures. **Food Microbiology** [online], v.21, p.501-509, 2004. Disponível em: http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_255_11_2_2005.pdf Acesso em: 30 out. 2012.

GIANNUZZI, L., PINOTTI, A., ZARITZKY, N. Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 39, p. 101-110, 1998. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S016816059700127X/1-s2.0-S016816059700127X-main.pdf?_tid=3f86a604-2883-11e2-b324-00000aab0f6c&acdnat=1352255674_9079bbfa12f867eb9059d19a003de952 Acesso em: 31 out. 2012.

GILL, C.O., HARRISON, J.C.L., PHILLIPS, D.M. Use of a temperature function integration technique to assess the hygienic adequacy of a beef carcass cooling process. **Food Microbiology** [online], v. 8, n. 2, p. 83-94, 1991. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0740002091900011> Acesso em: 12 out. 2012.

INGHAM, S.; FANSLAU, M.A.; BURNHAM, G.M.; INGHAM, B.H.; NORBACK, J.P.; SCHAFFNER, D.W. Predicting Pathogen Growth during Short-Term Temperature Abuse of Raw Pork, Beef, and Poultry Products: Use of an Isothermal-Based Predictive Tool. **Journal of Food Protection** [online], v. 70, n. 6, p. 1445-1456, 2007. Disponível em: http://www.meathaccp.wisc.edu/pathogen_modeling/assets/Temp%20JFP%2070.pdf Acesso em: 01 nov. 2012.

LEDERBERG, J. Infectious Disease as an Evolutionary Paradigm. **Emerging Infectious diseases** [online], v. 3, n. 4, p. 417-423, 1997. Disponível em: <http://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/BBABPH.pdf> Acesso em: 08 nov. 2012

KAJAK, K., KRAJEWSKA, D.K. Construction of predictive models of growth of microorganisms in salted and cured meat products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** [online], v. 7, p. 152-159, 2006. Disponível em: <http://www.ilunwen.com/translation/20100415/20100415202124thexuefj.pdf> Acesso em 18 nov. 2012.

KOUTSOUMANIS, K. Predictive Modeling of the Shelf Life of Fish under Nonisothermal Conditions. **Applied and Environmental Microbiology** [online], v. 67, p.1821-1829, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92803/pdf/am001821.pdf> Acesso em: 20 out. 2012.

KOUTSOUMANIS, K.; STAMATIOU, A.; SKANDAMIS, P.; NYCHAS, G.J.E.

Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions. **Applied and Environmental Microbiology** [online], v. 72, n. 1, p. 124-134, 2006. Disponível em: <http://aem.asm.org/content/72/1/124.full.pdf+html> Acesso em: 30 out. 2012.

KRIST, K. A.; ROSS, t.; McMEEKIN, T.A. Final optical density and growth rate; effects of temperature and NaCl differ from acidity. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 43, p. 195-203, 1998. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S016816059800110X/1-s2.0-S016816059800110X-main.pdf?_tid=e05eb6fe-2877-11e2-8a32-00000aacb35f&acdnat=1352250790_2caa1e7ff5c00eebd4862a91f2b1fd8b Acesso em: 31 out. 2012.

MACKEY, B. M.; KERRIDGE, A. L. The effect of incubation temperature and inoculum size on growth of salmonellae in minced beef. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 6, p. 57-65, 1988. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160588900852> Acesso em: 08 nov. 2012.

MARKS, B. P. Status of Microbial Modeling in Food Process Models. **Comprehensive Reviews. Food Science and Food Safety** [online], v. 7, p. 137-143, 2008. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2007.00032.x/pdf> Acesso em: 20 out. 2012.

MASSAGUER, P.R. Crescimento microbiano e os fatores que o afeta, In: MASSAGUER, P.R. **Microbiologia dos processos alimentares**, São Paulo: Varela, 2006. Cap. 1, p. 3-21.

McCLURE, P. J.; BLACKBURN, C.W.; COLE, M.B.; CURTIS, P.S.; JONES, J.E.; LEGAN, J.D.; OGDEN, I.D.; PECK, M.W.; ROBERTS, T.A.; SUTHERLAND, J.P.; WALKER, S.J. Modelling the growth, survival and death of microorganisms in foods: the UK Food Micromodel approach. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 23, p. 265-275, 1994. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/0168160594901562/1-s2.0-0168160594901562-main.pdf?_tid=68b796f2-2886-11e2-80e3-00000aab0f6c&acdnat=1352257032_270e59eb9e399d262ff697382b0d09cf Acesso em: 01 nov. 2012.

McDONALD, K., SUN, D.W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 52, p. 1-27, 1999. Disponível em: http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_239_10_2_2005.pdf Acesso em: 30 out. 2012.

McMEEKIN, T. A.; ROSS, T. Shelf life prediction: status and future possibilities. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 33, p. 65-83, 1996. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/0168160596011385/1-s2.0-0168160596011385-main.pdf?_tid=3cb9e24c-2888-11e2-a483-00000aab0f02&acdnat=1352257817_c94474130f831df9b7a8937bd8285177 Acesso em: 17 out. 2012.

McMEEKIN, T.A.; BROWN, J.L.; KRIST, K.; MILES, D.; NUEMEYER, K.; NICHOLS, D.S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D.A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety. **Emerging Infectious Diseases** [online], v. 3, n. 4, p. 541-549, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640082/pdf/9366608.pdf> Acesso em: 08 no. 2012.

McMEEKIN, T. A., OLLEY, J., RATKOWSKY, D. A., ROSS, T. Predictive microbiology: Towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 73, p. 395- 407, 2002. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0168160501006638/1-s2.0-S0168160501006638-main.pdf?_tid=ac7c70ee-2870-11e2-9465-00000aab0f27&acdnat=1352247697_52cb3c2c82ba38b8844874aef3ceea08 Acesso em: 30 out. 2012

McMEEKIN, T. A., ROSS, T. Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework or change management. **International Journal of Food Microbiology** [online], v.78, p. 133-153, 2002. Disponível em: <http://www.aseanfood.info/Articles/11013053.pdf> Acesso em: 01 nov. 2012.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, D.S. ; FRANCO, B.D.G.M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology** [online], v. 3, p.41-51, 2000. Disponível em: <http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/html/busca/PDF/v03nu33p.pdf> Acesso em: 15 out. 2012.

NEUMEYER, K.; ROSS, T.; McMEEKIN, T.A. Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads. **International Journal of Food Microbiology** [online], v.38, p. 45-54, 1997. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0168160597000895/1-s2.0-S0168160597000895-main.pdf?_tid=4632315c-2870-11e2-86ae-00000aacb361&acdnat=1352247525_c26e1ebc8541dc0a209b833717a49708 Acesso em: 22 out. 2012.

NICOLAI, B.M.; VAN IMPE, J.F.; VERLINDEN, B.; MARTENS, T.; VANDEWALLE, J.; BAERDEMAEKER, J. Predictive modelling of surface growth of lactic acid bacteria in vacuum- packed meat. **Food Microbiology** [online], v.10, p. 229-238, 1993. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0740002083710257/1-s2.0-S0740002083710257-main.pdf?_tid=059e6402-2885-11e2-9b24-00000aab0f27&acdnat=1352256436_ecd2098ce5713a45393efd76a435305f Acesso em: 21 out. 2012.

PRESSER, K., RATKOWSKY, D.A., ROSS, T. Modelling the growth rate of Escherichia coli as a function of pH and lactic acid concentration. **Applied and environmental microbiology** [online], v. 63, p. 2355– 2360, 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168528/pdf/632355.pdf> Acesso em: 01 nov. 2012.

ROBERTS, T. A. Control microbiológico de la producción de alimentos. In: ELEY, R. **Intoxicaciones Alimentarias de Etiología Microbiana**. Zaragoza: Acribia, 1992.

cap. 9, p. 165-182.

ROSS, T., McMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology** [online], v.23, p. 241-264, 1994. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/0168160594901554/1-s2.0-0168160594901554-main.pdf?_tid=68541eec-286d-11e2-afef-00000aacb35e&acdnat=1352246294_8bfed2b6f8c6aa521d68e7cfee9a537e Acesso em: 15 out. 2012.

SILVA, R.R.; MORAES, C.A.; BESSAN, J.; VANETTI, M.C.D. Validation of a predictive model describing growth of *salmonella* in enteral feeds. **Brazilian Journal of Microbiology** [online], v. 40, p. 149-154, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v40n1/a26v40n1.pdf> Acesso em: 07 nov. 2012.

SLONGO, A.P.; ROSENTHAL, A.; CAMARGO, L.M.Q.; DELIZA, R.; MATHIAS, S.P.; ARAGÃO, G.M.F. Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure. **Food Science and Technology** [online], v. 42, p. 303-306, 2012. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0023643808001515/1-s2.0-S0023643808001515-main.pdf?_tid=39c9c7e6-28dd-11e2-9b8a-00000aab0f27&acdnat=1352294319_7a32e035ce015a307b3305057466be74 Acesso em: 30 out. 2012.

SMITH, M.G. The generation time, lag time, and minimum temperature of growth of coliform organisms on meat, and the implications for codes of practice in abattoirs. **Journal of Higieny the Cambrige** [online], v. 94, p. 289-300, 1985. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2129483/pdf/jhyg00012-0046.pdf> Acesso em: 07 nov. 2012.

SOBOLEVA, T. K.; PLEASANTS, A.B.; ROUX, G. I. Predictive microbiology and food safety. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 57, p. 183-192, 2000. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0168160500002658/1-s2.0-S0168160500002658-main.pdf?_tid=dab882bc-287b-11e2-b219-00000aab0f27&acdnat=1352252499_ccfeb0dbe1c5fcde858796f82e2c236d Acesso em: 14 out. 2012.

SPERANZA, B.; BEVILACQUA, A.; CONTE, A.; DEL-NOBILE, M.A.; SINIGAGLIA, M.; CORBO, M.R. Use of Desirability Approach to Predict the Inhibition of *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens* and *Photobacterium phosphoreum* in Fish Fillets Through Natural Antimicrobials and Modified Atmosphere Packaging. **Food Bioprocess Technol** [online], DOI 10.1007/s11947-012-0889-3, 2012. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/065162rx35kln259/fulltext.pdf> Acesso em: 04 nov. 2012.

TELEKEN, J.T.; ROBAZZA, W.S.; GOMES, G.A. Mathematical modeling of microbial growth in Milk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** [online], v. 31, n. 4, p. 891-896, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v31n4/10.pdf> Acesso em: 03 nov. 2012.

TIJSKENS, L.M.M.; SCHIJVENS, E.P.H.M.; BIEKMAN, E.S.A. Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. **Innovative Food Science &**

Emerging Technologies [online], v. 2, p. 303-3013, 2001. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S1466856401000455/1-s2.0-S1466856401000455-main.pdf?_tid=a2d907b4-287f-11e2-85ad-00000aab0f6c&acdnat=1352254123_ac694e3b365b9fdb81c88c80d75d5e2 Acesso em: 04 nov. 2012.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Crescimento microbiano. In: TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10.ed. São Paulo: Artmed, 2012. cap. 6, p. 156-186.

VAN IMPE, J. F.; NICOLAI, B. M; MARTENS, T.; BAERDEMAEKER, J; VANDEWALLE, J. Dynamic Mathematical Model to predict microbial growth and Inactivation during food processing. **Applied and Environmental Microbiology** [online], v. 58, n. 9, p. 2901-2909, 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC183025/pdf/aem00050-0205.pdf> Acesso em: 02 nov. 2012.

VAN IMPE, J.F.; BART, M.N.; SCHELLEKENS, M.; MARTENS, T.; BAERDEMAEKER, J.A. Predictive microbiology in a dynamic environment: a system theory approach. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 25, p.227-249, 1995. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160594001402> Acesso em: 30 out. 2012.

VAN IMPE, J.F.; VERCAMMEN,D.; VAN DERLINDEN E. Toward a next generation of predictive models: A systems biology primer. **Food Control** [online], v. 29, p. 336-342, 2013. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0956713512003489/1-s2.0-S0956713512003489-main.pdf?_tid=7568539e-28dd-11e2-869d-00000aacb35f&acdnat=1352294419_9de8d41f13ac0946af54f9c283a3731a Acesso em: 24 out. 2012.

VERSYCK, K. J.; BERNAERTS, K.; GEERAERD, A.H. ; VAN IMPE, J.F. Introducing optimal experimental design in predictive modeling: A motivating example. **International Journal of Food Microbiology** [online], v. 51, p. 39-51, 1999. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0168160599000938/1-s2.0-S0168160599000938-main.pdf?_tid=f747145e-2888-11e2-9466-00000aab0f27&acdnat=1352258130_52f68e5726fa6315db76d80533ca4056 Acesso em: 02 nov. 2012.

WANG, J.; MEMBRÉ, J.; HÁ, S.; BAHK, G.; CHUNG, M.; CHUN, H.; HWANG, I.; OH, D. Modeling the Combined Effect of Temperature and Relative Humidity on Escherichia coli O157:H7 on Lettuce. **Food Science. Biotechnology** [online], v. 21, n. 3, p. 859-865, 2012. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/0375002684872553/fulltext.pdf>

Acesso em: 30 out. 2012.

WHITING, R.C.; BUCHANAN, R.L. A classification of models for predictive microbiology. **Food Microbiology** [online], v. 10, p. 175-177, 1993. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0740002083710178/1-s2.0-S0740002083710178-main.pdf?_tid=a7267dbc-287d-11e2-ba9b-

00000aab0f6b&acdnat=1352253271_11332061ff113da0cc987e78c5778f42 Acesso em: 06 nov. 2012.

WHITING, R. C. Microbial modelling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** [online], v. 35, p. 467-494, 1995. Disponível em: <http://wyndmoor.arserrc.gov/Page/1995/6219.pdf> Acesso em: 11 out. 2012

WHITING, R.C. Microbial database buiding: what have we learned ? **Food Technology** [online], v. 51, n. 4, p. 82-86, 1997. Disponível em: <http://wyndmoor.arserrc.gov/Page/1997%5C6475.pdf> Acesso em: 31 out. 2012.