

MICROBIOLOGIA PREDITIVA ALIMENTAR

As sinergias entre a microbiologia, a matemática e as tecnologias da informação



Ana Anastácio

Não é novidade a associação entre a informática e a microbiologia que, conjuntamente com a matemática, constituem uma área designada por microbiologia preditiva, nem a sua utilização em sistemas de garantia da segurança alimentar. A crescente preocupação com a saúde pública, as limitações da microbiologia tradicional e a globalização na utilização de computadores [1] impulsionaram a investigação conjunta em microbiologia, matemática e tecnologias da informação. Como resultado, foram construídos modelos matemáticos para o crescimento (e destruição) de microrganismos patogénicos nos alimentos, que constituem o foco da microbiologia preditiva alimentar.

A microbiologia preditiva pressupõe que é o ambiente que determina o comportamento microbiano. Uma vez que as respostas de um determinado microrganismo num ambiente sejam

quantificadas, é possível determinar a forma como o mesmo se comporta em condições semelhantes [2]. Em termos simples, a obtenção de um modelo de previsão envolve o estudo de um microrganismo em particular num determinado alimento, em condições conhecidas e controladas. O tratamento dos dados obtidos pelo estudo permite obter uma equação que poderá prever o tempo de ajuste ao meio (fase lag) e/ou a taxa de crescimento após adaptação das células do microrganismo à matriz do alimento. Ao variar condições ambientais como o pH ou teor de sal no alimento, ou o tempo e temperatura de armazenagem do mesmo, é possível verificar se há aumento da contaminação (crescimento) nas condições testadas.

Actualmente, os grupos de investigação disponibilizam os seus resultados em bases de dados que estão associadas a softwares

Tabela 1 – Indicação de programas informáticos associados à microbiologia preditiva (Adaptado de [2,3])

| | |
|---|--|
| ComBase | ComBase Consortium, Food Standards Agency, Institute of Food Research, USDA ARS ERRC http://www.combase.cc/ |
| Pathogen Modeling Program (PMP) | USDA ARS Eastern Regional Research Center (ERRC) http://pmp.arserrc.gov/PMPOnline.aspx |
| Growth Predictor | Web-based version of Perfringens Predictor is now included in the Combase Modelling Toolbox http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/ |
| Seafood Spoilage Predictor (SSP) | Danish Institute for Fisheries Research Microbiology Group http://sssp.dtuqua.dk/ |
| THERM | The University of Wisconsin Center for Meat Process Validation http://www.meathaccp.wisc.edu/THERM/Calc.aspx |
| Bacanova Project | Fundado by the European Commission Frame V Programme http://www.ifr.ac.uk/bacanova/default.html |

Tabela 2 – Utilização de modelos de microbiologia preditiva nos princípios HACCP (Adaptado de [4])

| Princípios HACCP | Microbiologia preditiva |
|---|---|
| Identificar perigos potenciais e avaliar a sua gravidade nas diferentes fases de transformação. | Auxiliar na identificação de microrganismos patogénicos relevantes. |
| Identificar pontos críticos de controlo (PCCs). | Auxiliar na identificação do aumento do risco do perigo potencial. |
| Estabelecimento de limites críticos de controlo. | Comparar previsões com critérios de aceitação estabelecidos. |
| Estabelecimento de sistemas de monitorização. | Incorporar a informação disponível nos sistemas de monitorização que indiquem crescimento microbiano. |

Tabela 3 – Valores de abuso de temperatura de armazenagem de carne crua utilizados no programa THERM

| Date (mm/dd/yyyy) | Time (hh:mm am) | Temp |
|-------------------|-----------------|------|
| 12/11/2009 | 08:00 AM | 10 |
| 12/11/2009 | 02:00 PM | 10 |
| 12/12/2009 | 08:00 AM | 10 |
| 12/12/2009 | 02:00 PM | 10 |
| 12/13/2009 | 08:00 AM | 10 |
| 12/13/2009 | 02:00 PM | 12 |
| 12/14/2009 | 08:00 AM | 12 |
| 12/14/2009 | 02:00 PM | 11 |
| 12/15/2009 | 08:00 AM | 11 |
| 12/15/2009 | 02:00 PM | 12 |
| 12/16/2009 | 08:00 AM | 13 |
| 12/16/2009 | 02:00 PM | 14 |
| 12/17/2009 | 08:00 AM | 10 |
| 12/17/2009 | 02:00 PM | 10 |
| 12/18/2009 | 08:00 AM | 10 |
| 12/18/2009 | 02:00 PM | 10 |

de acesso livre na internet. Alguns exemplos são apresentados na Tabela 1. Dado que são modelos matemáticos, estes programas de informática devem ser utilizados dentro dos limites especificados em cada pacote [2]. É recomendada uma leitura cuidadosa das especificações dos modelos disponibilizados.

Para além de contribuir para uma melhor aprendizagem em matéria de microbiologia [1] e segurança alimentar, a utilização da microbiologia preditiva é particularmente útil no processo de concepção de novos produtos, incluindo a estimativa do tempo de prateleira. A utilização do modelo permite avaliar o impacto de diferentes condições intrínsecas ou extrínsecas ao alimento no crescimento/destruição de microrganismos. Ao permitir simular diferentes condições de abuso no produto acabado, a utilização de modelos de microbiologia preditiva pode auxiliar na definição do prazo de validade de um produto alimentar ao, por exemplo, seleccionar (desejavelmente reduzir) o número de condições a confirmar com testes laboratoriais [1,4].

Face a desvios de limites críticos especificados para um determinado perigo microbiológico, a justificação das acções correctivas pode ser reforçada apresentando resultados de simulações de microbiologia preditiva, garantindo-se que o(s) modelo(s) seleccionados são aplicáveis e relevantes para aquele caso em particular. A utilização da microbiologia preditiva na aplicação dos princípios HACCP é indicada na Tabela 2.

Já tiveram lugar no nosso país iniciativas entre a comunidade académica e operadores da cadeia alimentar para dar a conhecer e promover a utilização desta ferramenta na indústria alimentar. Apresentam-se de seguida três exemplos práticos para ilustrar possíveis estimativas do aumento do nível do risco de diferentes perigos microbiológicos. A aplicação da microbiologia preditiva na avaliação do risco de segurança alimentar tem como base a equação introduzida pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) [4]:

$$H_0 - \Sigma R + \Sigma I \leq FSO$$

Em que H_0 corresponde à soma do nível de contaminação inicial, ΣR à soma das reduções decimais e ΣI à soma dos aumentos decimais de carga microbiana. O resultado da equação terá que ser inferior ao Objectivo de Segurança Alimentar (Food Safety Objective, FSO) definido para um determinado microrganismo. Pretende-se ilustrar com os seguintes exemplos que a estimativa do valor de ΣI para diferentes condições/situações de abuso é muito facilitada recorrendo a software disponível gratuitamente na internet.

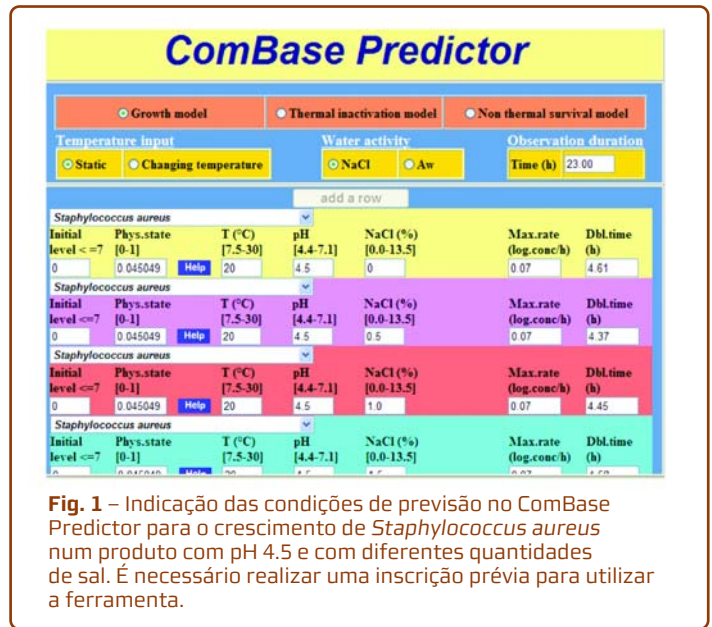


Fig. 1 – Indicação das condições de previsão no ComBase Predictor para o crescimento de *Staphylococcus aureus* num produto com pH 4.5 e com diferentes quantidades de sal. É necessário realizar uma inscrição prévia para utilizar a ferramenta.

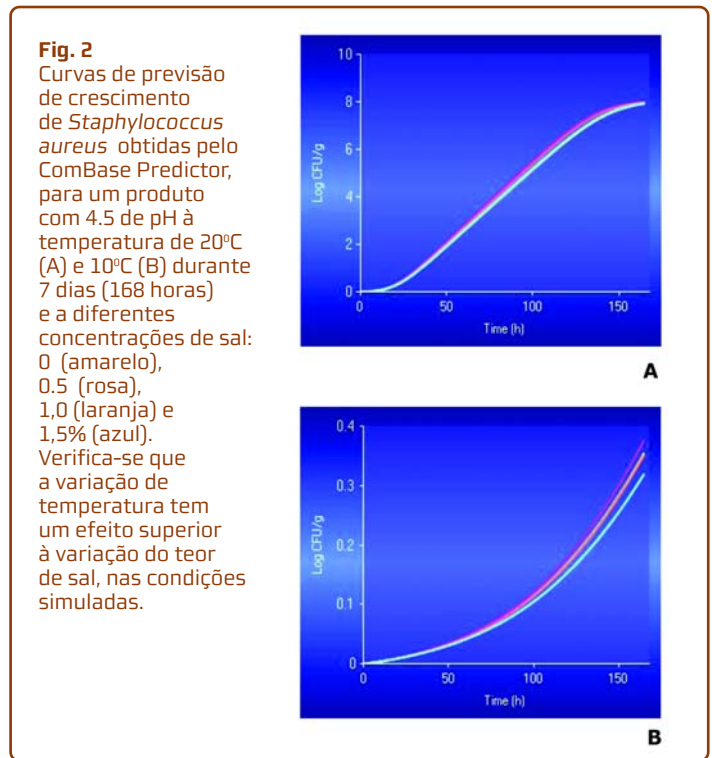


Fig. 2 Curvas de previsão de crescimento de *Staphylococcus aureus* obtidas pelo ComBase Predictor, para um produto com 4.5 de pH à temperatura de 20°C (A) e 10°C (B) durante 7 dias (168 horas) e a diferentes concentrações de sal: 0 (amarelo), 0,5 (rosa), 1,0 (laranja) e 1,5% (azul). Verifica-se que a variação de temperatura tem um efeito superior à variação do teor de sal, nas condições simuladas.



Fig. 3 Ecrã de entrada no Perfringens Predictor, incluído no ComBase. É necessário realizar uma inscrição prévia para utilizar a ferramenta.

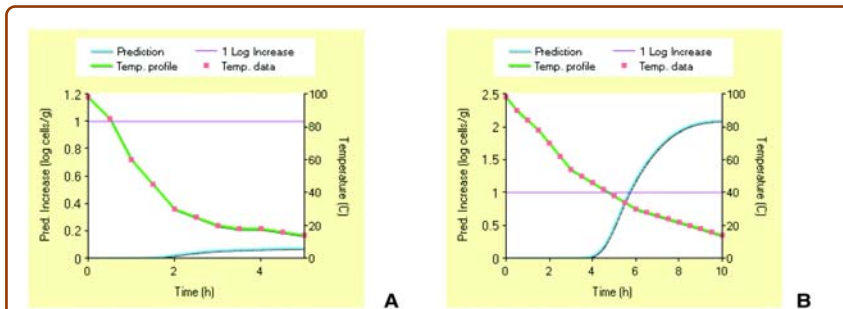


Fig. 4 – Previsão do crescimento *C. perfringens* pelo Perfringens Predictor durante o arrefecimento de uma carne confeccionada com pH 6 e 1.5% de sal, para duas situações: arrefecimento de 98 a 14°C em 5 h (A) e em 10 h (B): previsão do crescimento (azul), limite crítico (rosa), perfil de arrefecimento (linha verde), temperatura de arrefecimento (pontos vermelhos). Verifica-se que se ultrapassa o limite de < 1 log de crescimento para o arrefecimento da carne em 10 horas.



Fig. 5 Imagem de entrada no programa THERM. O perfil de entrada pode ser carregado directamente na tabela ou a partir de um ficheiro e é possível incluir elementos de rastreabilidade do produto na simulação.

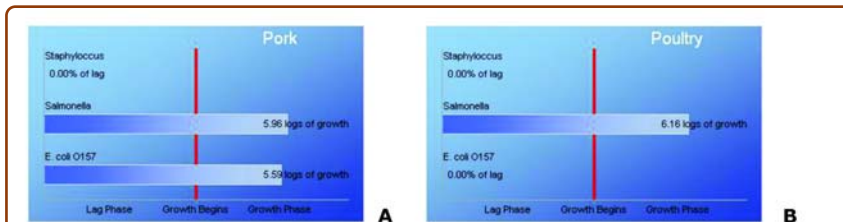


Fig. 6 – Previsão do crescimento de patogénicos em carne crua de porco (A) e carne de aves (B) para o perfil de abuso de temperatura indicado na Tabela 3 utilizando o programa THERM. É possível verificar que há um aumento significativo do risco ($\Sigma I > 5$) para a *Salmonella spp* em ambas as carnes cruas, enquanto que o *Staphylococcus aureus* não terá uma probabilidade de aumento significativo. Para a carne de porco é ainda necessário considerar que a *E. coli* O157 tem possibilidade de crescer significativamente no perfil de abuso testado ($\Sigma I > 6$).

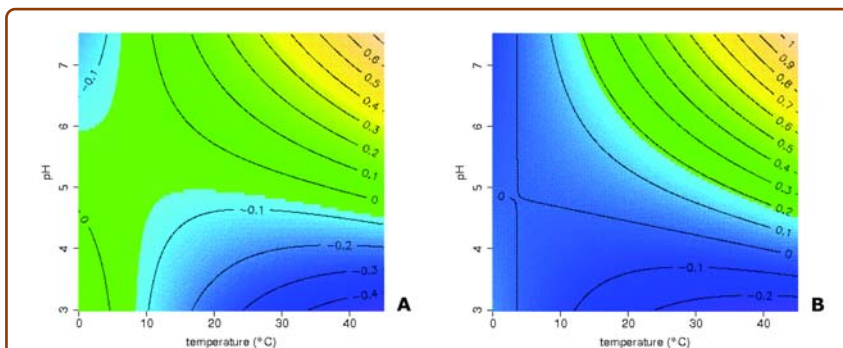


Fig. 7 – Gráfico de contorno da taxa de crescimento da *Listeria monocytogenes* pelo programa MRV – Microbial Responses Viewer, para dois valores de actividade de água: 0,92 (A) e 0,98 (B). Considera-se que há crescimento do microorganismo quando a taxa de crescimento tem um valor positivo.

Exemplo Prático 1

Estimativa de ΣI associado à variação do teor de sal num produto alimentar, utilizando o software ComBase Predictor
 O ComBase Predictor (Figura 2) prevê a resposta de vários microrganismos em diferentes alimentos e é uma das ferramentas disponíveis na base de dados, para além do Perfringens Predictor, utilizado no exemplo prático 2. Ao se simular o efeito da variação do teor de sal no crescimento de *Staphylococcus aureus* num produto com 4.5 de pH, verifica-se que os diferentes níveis testados (0, 0.5, 1 e 1.5%) apresentam poucas diferenças entre si, sendo mais significativo para o aumento do perigo a temperatura de armazenagem (Figura 2). O crescimento previsto de *S. aureus* é de cerca de 8 logs para 20°C, mas inferior a 1 log para 10°C. Conclui-se que se houver erro na adição de sal dentro da gama testada, não tem influência no aumento do risco ($\Sigma I \sim 0$) de *S. aureus* no produto.

Exemplo Prático 2

Estimativa de ΣI associado ao arrefecimento de carne confeccionada, utilizando o software Perfringens Predictor
 O Perfringens Predictor prevê o crescimento de *Clostridium perfringens* durante o arrefecimento de carnes confeccionadas (Figura 3). Foram simulados dois perfis de arrefecimento de uma carne a pH 6, numa primeira situação o produto arrefecia de 98 a 14°C em 5 horas, enquanto que numa segunda simulação o arrefecimento seria em 10 h para os mesmos valores de temperatura. Os gráficos obtidos pelo Perfringens Predictor (Figura 4) permitem verificar que em 5 horas não há aumento significativo do risco de crescimento de *Clostridium perfringens*, mas para um tempo de 10 h verifica-se um aumento significativo do perigo ($\Sigma I \sim 2$ logs).

Exemplo prático 3

Estimativa de ΣI no abuso da temperatura de armazenagem na segurança alimentar da carne crua, utilizando o software THERM
 O programa informático THERM (Figura 5) (ver acesso electrónico na Tabela 1) foi desenvolvido por uma equipa da Universidade de Wisconsin-Madison (EUA) para prever o crescimento em carnes cruas

sujeitas a abusos de temperatura (entre 10 e 46°C) [5]. Introduziu-se um hipotético perfil de temperatura (Tabela 3) e obtiveram-se previsões do crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp* para carnes de porco e de aves, e ainda de *E. coli* O157 para a carne de porco (Figura 6). Verificou-se que há um aumento de *Salmonella spp* de 5.96 e 6.16 logs para a carne de porco e de aves, respectivamente. Há também um aumento significativo (5.59 logs) para a *E. coli* O157 na carne de porco. Assim, para carnes cruas nas condições de armazenagem simuladas, aumenta significativamente o risco de segurança alimentar para os microrganismos patogénicos testados ($\Sigma I > 5$ logs).

Os exemplos práticos incidiram no aumento da contaminação, mas é possível também verificar o efeito na redução (ΣR) associado a diferentes tratamentos, em condições estáticas e dinâmicas. Foi verificado que o ComBase, tendo diferentes modos de utilização, pode revelar-se pouco conveniente em decisões do tipo presença/ausência de crescimento. Durante 2009 foi desenvolvida a plataforma [6] denominada Microbial Response Viewer (<http://cbnfri.dc.affrc.go.jp/>), onde é possível visualizar gráficos de contorno da taxa de crescimento de vários microrganismos patogénicos para diferentes combinações de temperatura, pH e actividade de água. Como os gráficos acessíveis

nesta plataforma já estão elaborados (Figura 6), a sua utilização pode ser mais uma alternativa interessante para a tomada de decisões em matéria de segurança alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Nakashima, S.M.K.; André, C.D.S. & Franco, B.D.G.M. (2000) Aspectos básicos da microbiologia preditiva (Revisão). *Braz. Journal Food Technology*, 33, 41-51.
- [2] Ross, T. (2008) Calculating contamination risk, *Asian Food Journal*, March (<http://www.asiafoodjournal.com/article-5047-calculatingcontaminationrisk-Asia.html>)
- [3] Burnham, G. M.; Schaffner, D. W. & Ingham, S.C. (2008) Predict Safety, *Food Quality*, Apr/May. (http://www.foodquality.com/mag/04012008.05012008/fq_05012008_FE1.html)
- [4] McMeekin, T.A., Olley, J.N., Ross, T. & Ratkowsky, D.A. (1993) Predictive Microbiology and Its Use in HACCP. *Predictive Microbiology: Theory and Application*, RSP, Taunton, England.
- [5] Ingham, S.C.; Fanslau, M. A.; Burnham, G. M.; Ingham, B. H.; Norback, J. P. & Schaffner, D. W. (2007) Predicting Pathogen Growth during Short-Term Temperature Abuse of Raw Pork, Beef, and Poultry Products: Use of an Isothermal-Based Predictive Tool. *J. Food Protection* 70:1445-1456. http://www.meathaccp.wisc.edu/assets/manuscripts/Therm1_07.pdf
- [6] Koseki, S. (2009) Microbial Responses Viewer (MRV): A new ComBase-derived database of microbial responses to food environments, *International Journal of Food Microbiology*, 134: 75-82. http://www.nfri.affrc.go.jp/research/katsudo/pdf/2008/FM2008_talk_koseki.pdf

Ana Coelho Anastácio, docente de Desenvolvimento de Produtos e Processos no Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve

CLICKLAB_

WORK IS EASY

Grupo Controlvet

À medida do seu Negócio e da sua Empresa

Centro Empresarial da Lionesa
Edifício C5, Rua da Lionesa, 446
4465 - 671 Leça do Ballo
Porto

geral@clicklab.pt
www.clicklab.pt

Serviços

Desenvolvimento de Software Personalizado
Outsourcing de serviços de Software



Produtos

FastClick Qualidade
FastClick Produção
FastClick HACCP / Rastreabilidade
FastClick Manutenção
FastClick Higiene e Segurança no Trabalho
FastClick Frotas