



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO E MODELAGEM DO EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO
ESTRESSE OSMÓTICO NA INATIVAÇÃO DE SOROTIPOS DE
Salmonella enterica POR LUZ UV-C DURANTE O FENÔMENO FÊNIX**

DJAÍNI REGINA MARCHI

FLORIANÓPOLIS

2021

DJAINI REGINA MARCHI

**AVALIAÇÃO E MODELAGEM DO EFEITO DA EXPOSIÇÃO AO
ESTRESSE OSMÓTICO NA INATIVAÇÃO DE SOROTIPOS DE
Salmonella enterica POR LUZ UV-C DURANTE O FENÔMENO FÊNIX**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina apresentado como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr. Gláucia M. Falcão de Aragão
Coorientadora: Me. Camila Casagrande Paganini

FLORIANÓPOLIS

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu saúde e forças para superar todos os momentos difíceis a que eu me deparei ao longo da minha graduação.

Aos meus pais, Nilto Marchi e Regina Maria Viera Marchi, por serem essenciais na minha vida e terem me proporcionado tudo o que precisei para realizar esse sonho.

A meu amado Odeson, por todo apoio, carinho, dedicação para comigo, e por ser uma das minhas maiores alegrias.

A minha irmã Djeini por sempre estar ao meu lado.

Aos meus queridos tios, em especial, Roseli e Renato, por toda dedicação que sempre tiveram por mim.

Aos colegas e amigos de graduação, em especial: Amanda Rafaela dos Santos, Ana Luiza, Beatriz Oliveira Ortiz, Cássia Merlo e Marielle Correia pela amizade e companhia de enfrentar os desafios oferecidos pela Universidade.

A minha amiga Jaqueline Barriquelo, por sua amizade fiel e verdadeira.

A toda minha família e amigos que me incentivaram e compreenderam por muitas vezes minha ausência enquanto me dediquei a essa realização.

Agradeço a minha querida Universidade Federal de Santa Catarina, e ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos.

Aos meus queridos professores, sempre dispostos a ajudar, e que foram primordiais para meu desenvolvimento acadêmico; em especial a minha orientadora Doutora Gláucia, minha coorientadora Mestre Camila, por todos os ensinamentos, dedicação e paciência. Sem essa ajuda, não seria possível a realização desse trabalho.

Aos membros da banca examinadora professor Bruno Carciofi e Danielle Severo por aceitarem o meu convite.

Também agradeço o Laboratório de Engenharia Biológica (LiEB – UFSC), bem como todos os colegas de trabalho, que auxiliaram muito em meu crescimento profissional.

E por fim, agradeço aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento e a realização desse sonho.

De tudo ficam três coisas: A certeza de que estamos sempre começando... A certeza de que precisamos continuar... A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar... portanto, devemos: Fazer da interrupção um caminho novo... Da queda, um passo de dança... Do medo, uma escada... Do sonho, uma ponte... Da procura, um encontro...” Fernando Sabino

RESUMO

Algumas espécies de *Salmonella*, expostas a condições de estresse osmótico (baixa a_w), apresentam inicialmente diminuição do número de células viáveis, seguido por uma recuperação do crescimento e o aumento no nível da contagem. Este comportamento foi denominado como Fenômeno Fênix. A exposição de determinados microrganismos a condições estressantes não letais pode resultar no aumento da sua resistência a estresses posteriores. O objetivo desse trabalho foi avaliar e modelar o efeito da exposição ao estresse osmótico ($a_w=0,950$), durante a ocorrência do Fenômeno Fênix, na resistência de diferentes sorotipos de *S. enterica* ao tratamento por luz UV-C. Os sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium*; *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*) foram inoculados em 300ml de caldo BHI com 7% de NaCl em massa, atingindo a a_w de 0,950. As amostras foram incubadas a 25 ° C. Os dados cinéticos de *S. enterica* foram medidos por contagens de viáveis ao longo do tempo. As curvas de inativação foram obtidas a partir da exposição à radiação UV-C utilizando diferentes doses de irradiação: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m² (irradiância de 6,5 W/m², nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 minutos), para amostras controle (sem passar pelo estresse osmótico) e amostras expostas ao estresse osmótico (durante o Fenômeno Fênix). O modelo primário de Weibull foi ajustado aos dados experimentais para modelar a cinética de inativação dos sorotipos de *S. enterica*. A capacidade preditiva do modelo foi avaliada por meio de índices estatísticos. Todos os sorotipos estudados, expostas à condição de estresse osmótico, apresentaram o Fenômeno Fênix, com diferentes comportamentos. *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*, isoladas da indústria, mostraram mais rápida adaptação ao meio osmótico, quando comparada aos outros dois sorotipos. A concentração de *S. Enteritidis* diminuiu mais rapidamente, apresentando maior sensibilidade da população inicial ao ambiente osmótico. Em relação à inativação, também se observou diferenças nas resistências dos sorotipos de *S. enterica*. A passagem pelo Fenômeno Fênix causou variações nos parâmetros p e δ , para todas as condições estudadas. *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* tornaram-se mais resistentes ao tratamento com luz UV-C após o Fenômeno Fênix, em relação ao t_0 e ao controle. *S. Enteritidis*, porém, não seguiu a mesma tendência dos outros sorotipos. *S. Minnesota* foi a que apresentou melhor capacidade de adaptação e resistência à irradiação UV-C em t_{96} (após a ocorrência do Fenômeno Fênix), necessitando de uma dose (d_2) de 3,43 KJ/m² para uma redução de 2 ciclos logarítmicos, seguido por *S. Heidelberg* com d_2 de 3,32 KJ/m². *S. Enteritidis* foi a menos resistente com d_2 de 1,75 KJ/m² após Fenômeno Fênix (t_{120}). Todos os sorotipos, exceto *S. Typhimurium*, apresentaram d_2 maior para t_0 (antes do Fenômeno Fênix), em relação à amostra controle sugerindo que um estresse osmótico instantâneo (as células foram apenas colocadas em contato com o meio osmótico e logo retiradas para o teste de inativação), em algumas cepas bacterianas, pode oferecer alguma resistência à população sobrevivente. O modelo de Weibull apresentou bom ajuste aos dados experimentais. Os resultados mostram a necessidade do estudo da resistência de microrganismos que são expostos a estresses sequenciais, que podem ocorrer durante o processamento de alimentos.

Palavras chaves: *Salmonella enterica*. Fenômeno Fênix. Resistência bacteriana. Condições de estresse. Luz UV-C.

ABSTRACT

Some *Salmonella* species, exposed to osmotic stress conditions (low a_w), initially show a decrease in the number of viable cells, followed by a recovery of growth and an increase in the level of the count. This behavior was termed as the Phoenix Phenomenon. Exposure of certain microorganisms to non-lethal stressful conditions can result in increased resistance to subsequent stress. The aim of this work was to evaluate and model the effect of exposure to osmotic stress ($a_w = 0.950$), during the occurrence of the Phoenix Phenomenon, on the resistance of different *S. enterica* serotypes to UV-C light treatment. The *S. enterica* serotypes (*S. Typhimurium*; *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* and *S. Minnesota*) were inoculated in 300ml of BHI broth with 7% NaCl by mass, reaching 0.950 a_w . The samples were incubated at 25 ° C. Kinetic data of *S. enterica* were measured by viable counts over time. Inactivation curves were obtained from exposure to UV-C radiation using different doses of irradiation: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m², for control samples (without going through osmotic stress) and samples exposed to osmotic stress (during the Phoenix Phenomenon). Weibull's primary model was adjusted to experimental data to model the inactivation kinetics of *S. enterica* serotypes. The predictive capacity of the model was assessed using statistical indexes. All serotypes studied, exposed to the condition of osmotic stress, presented the Phoenix Phenomenon, with different behaviors. *S. Heidelberg* and *S. Minnesota*, isolated from the industry, showed faster adaptation to the osmotic environment, when compared to the other two serotypes. The concentration of *S. Enteritidis* decreased more rapidly, showing greater sensitivity of the initial population to the osmotic environment. Regarding inactivation, there were also differences in resistance in the *S. enterica* serotypes. The passage through the Phoenix Phenomenon caused variations in the parameters p and δ , for all conditions studied. *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* and *S. Minnesota* became more resistant to treatment with UV-C light after the Phoenix Phenomenon, in relation to t_0 and control. *S. Enteritidis*, however, did not follow the same trend as the other serotypes. *S. Minnesota* was the one that showed the best adaptability and resistance to UV-C irradiation in t_{96} (after the occurrence of the Phoenix Phenomenon), requiring a dose (d_2) of 3.43 KJ / m² for a reduction of 2 logarithmic cycles, followed by *S. Heidelberg* with d_2 of 3.32 KJ / m². *S. Enteritidis* was the least resistant with a d_2 of 1.75 KJ / m² after the Phoenix Phenomenon (t_{120}). All serotypes, except *S. Typhimurium*, had a higher d_2 for t_0 (before the Phoenix Phenomenon), compared to the control sample suggesting an instantaneous osmotic stress (the cells were just placed in contact with the osmotic medium and then removed for testing. inactivation), in some bacterial strains, may offer some resistance to the surviving population. The Weibull model presented a good fit to the experimental data. The results show the need to study the resistance of microorganisms that are exposed to sequential stresses, which can occur during food processing.

Keywords: *Salmonella enterica*. Phoenix phenomenon. Bacterial resistance. Stress conditions. UV-C light.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Espectro eletromagnético.....	27
Figura 2 - Efeito biocida da luz UV-C no DNA de microrganismo.....	28
Figura 3 - Curvas de sobrevivência: (a) log-linear; (b) log-linear com ombro; (c) loglinear com cauda; (d) log-linear com ombro e cauda; (e) bifásica; (f) côncava para cima e para baixo.....	35
Figura 4 - Equipamento de radiação UV-C para a irradiância de 6,5 W/m ²	40
Figura 5 - Dados experimentais (símbolos) de <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Minnesota</i> e <i>S. Heidelberg</i> , incubados a 25 °C em caldo BHI ($a_w = 0,950$). As linhas contínuas representam o ajuste do modelo primário Paganini et al. 2021 (artigo submetido) (Eq. (6)) aos dados experimentais. Os círculos em vermelho indicam os <i>time-point</i> em que foram retiradas as amostras para determinação do efeito da irradiação UV-C ($t = 0$ para todos os sorotipos; $t = 96$ para <i>S. Minnesota</i> ; $t = 120$ para <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> e <i>S. Heidelberg</i>).....	42
Figura 6 – Curva de sobrevivência de diferentes sorotipos de <i>S. enterica</i> (<i>S. Typhimurium</i> (A); <i>S. Enteritidis</i> (B), <i>S. Heidelberg</i> (C) e <i>S. Minnesota</i> (D)) tratados com luz UV-C utilizando diferentes doses de irradiação: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m, nos <i>time-point</i> estudados, o controle, t_0 e t_{120}/t_{96} . As linhas contínuas representam o ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição de sorotipos de acordo com espécie e subespécie de <i>Salmonella</i>	16
Tabela 2 - Parâmetros do modelo (p e δ), doses para duas reduções decimais (d_2) e índices estatísticos (R^2 e RMSE) obtidos a partir do ajuste do modelo de inativação de Weibull aos dados experimentais de <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Heidelberg</i> e <i>S. Minnesota</i> durante o Fenômeno Fênix.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a_w	Atividade de Água
ATP	Trifosfato de adenosina
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CDC	<i>Disease Control and Prevention</i>
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
d_2	Dose necessária para redução de 2 ciclo Logarítmicos
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
Eq.	Equação
FDA	<i>Food And Drug Administration</i>
I	Irradiância
k_{max}	velocidade de inativação específica máxima da subpopulação inativando. (1/h) /Cinética de crescimento
LMP	Lâmpadas de baixa pressão
MPM	Lâmpada de média pressão
n	Número de observações experimentais
N	Concentração microbiana (UFC/mL) / Inativação por UV-C
N_0	Concentração microbiana inicial (UFC/g) /Inativação por UV-C
N_i	Células inativadas (UFC/mL) / Cinética de crescimento
N_g	Células sobrevivendo e crescendo (UFC/mL) /Cinética de crescimento
N_t	Concentração microbiana total (UFC/mL)/ Cinética de crescimento
p	Fator de forma
RASFF	<i>Rapid Alert System for Food and Feed</i>
R^2	Coefficiente de determinação
RMSE	Raiz do erro quadrático médio
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
t	Tempo (min)

t_0	Tempo zero horas, logo após a exposição ao estresse osmótico
t_{96}	Tempo 96h após a exposição ao estresse osmótico
t_{120}	Tempo 120h após a exposição ao estresse osmótico
TLR	lag relativo
UE	União Européia
UFC	Unidade formadoras de colônias
μ_{max}	velocidade específica máxima da subpopulação sobrevivendo e então crescente. (1 / h) / Cinética de crescimento
UV	Ultravioleta
UV-A	Ultravioleta de onda longa
UV-B	Ultravioleta de onda média
UV-C	Ultravioleta de onda curta
$y_{i,0}$	Logaritmo da concentração inicial de células da subpopulação inativada (log UFC/mL) / Cinética de crescimento
y_i	Logaritmo da concentração de células da subpopulação inativada (log UFC/mL) / Cinética de crescimento
y_g	Logaritmo da concentração de células da subpopulação sobrevivendo e crescendo (log UFC/mL) / Cinética de crescimento
y_{max}	logaritmo da concentração máxima de células da subpopulação sobrevivendo e então crescente (log UFC / mL) / Cinética de crescimento
y_t	Logaritmo da concentração de células totais (log UFC/mL) / Cinética de crescimento
λ	Fase lag - tempo necessário para a população sobrevivente iniciar o crescimento / Cinética de crescimento
δ	Parâmetros de escala
β	Número de parâmetros do modelo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Objetivos.....	14
1.1.1. Objetivos Gerais	14
1.1.2. Objetivos Específicos	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. <i>Salmonella</i> ssp.	15
2.1.1. <i>Salmonella enterica</i> Enteritidis.....	17
2.1.2. <i>Salmonella enterica</i> Typhimurium.....	18
2.1.3. <i>Salmonella enterica</i> Minnesota.....	19
2.1.4. <i>Salmonella enterica</i> Heidelberg.....	20
2.2. Condições de estresse.....	21
2.2.1. Estresse Osmótico.....	23
2.2.2. Fenômeno Fênix.....	25
2.3. Radiação ultravioleta (UV-C)	26
2.4. Microbiologia preditiva.....	30
2.4.1. Modelagem Matemática do comportamento microbiano sob condições de estresse osmótico.....	31
2.4.2. Modelos Matemáticos de Inativação.....	34
2.4.2.1. Modelo de Weibull.....	35
3. MATERIAS E MÉTODOS.....	38
3.1. Microrganismos.....	38
3.2. Preparação do inóculo.....	38
3.3. Análises microbiológicas.....	38
3.3.1. Cinética bacteriana experimental.....	38
3.3.2. Cinética de inativação bacteriana ao longo do Fenômeno Fênix (após exposição ao estresse osmótico)	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42

5.	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	50

1. INTRODUÇÃO

O crescimento microbiano é influenciado por diferentes fatores como por exemplo, disponibilidade de nutrientes, temperatura, pH, níveis de oxigênio e níveis de soluto ideais (SPECTOR; KENYON, 2012). A alteração de alguma dessas condições pode causar ao microrganismo um estresse letal ou subletal. Em indústrias de alimentos, comumente microrganismos enfrentam mudanças ambientais, que podem representar um tipo de estresse. De acordo com Spector e Kenyon (2012), quando microrganismos são submetidos a condições estressantes, próximas aos limites de crescimento, diferentes respostas no comportamento bacteriano podem ser encontradas.

Dentre os tipos de estresse, o estresse osmótico pode ser facilmente encontrado como uma estratégia de preservação no processamento de alimentos, seja pela adição de soluto, ou pela evaporação da água. Porém, estudos encontrados na literatura mostram que a exposição de microrganismos a ambientes osmóticos pode causar aumento na resistência, habilidade de adaptação e diferentes respostas bacterianas. (SPECTOR e KENYON, 2012; TIGANITAS et al., 2009; ZHOU et al., 2011).

Sorotipos pertencentes a espécie *Salmonella enterica* são considerados um dos agentes mais comuns responsáveis por doenças transmitidas por alimentos (DTA), causando grande preocupação mundial em saúde pública (ANTUNES, et al, 2016). Em todo o mundo, estima-se que *Salmonella* spp. seja responsável por 80,3 milhões de casos de doenças transmitidas por alimentos, resultando em problemas que afetam a saúde pública e o desenvolvimento econômico. Poucos microrganismos possuem a capacidade de lidar com a gama de estresses presentes em ambientes naturais, comerciais e hospedeiros como sorotipos de *Salmonella enterica* (STOCKER E MAKELA, 1986; CABELLO et al., 1993; D 'Aoust et al., 2001; RYCHLIK E BARROW, 2005; KENYON E SPECTOR, 2011). A sua resistência a mudanças de condições ambientais, como atividade de água (a_w), pode levar a sua sobrevivência acarretando em problemas de contaminação (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Algumas populações bacterianas expostas a condições de estresse osmótico (baixa a_w) mostram um comportamento denominado “Fenômeno Fênix”, reportado pela primeira vez em 1961 por Collee, Knowlden e Hobbs. Os autores observaram que, logo após a inoculação, a curva de contagem viável exibiu uma diminuição, seguida de um período em que os números permanecem inalterados e, a partir de então, ocorre um crescimento exponencial. Zhou et. al

(2011) observaram o Fenômeno Fênix para *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium cultivada em diferentes condições de baixa a_w . Aspidou, Akritidou e Koutsoumanis (2018) avaliaram o Fenômeno Fênix em *Salmonella enterica* Agona exposta a condições de estresse osmótico e constataram que o fenômeno envolve três fases simultâneas: crescimento, sobrevivência e a morte celular.

A conservação de alimentos por métodos não térmicos, como o método de inativação de microrganismos por radiação ultravioleta (UV), vem ganhando bastante destaque. A luz ultravioleta de onda curta (UV-C) envolve uma região do espectro eletromagnético (200-280 nm) com um pico de efeito germicida em bactérias, leveduras, fungos e vírus em 250-270 nm (KEYSER ET AL., 2008 ; SANTHIRASEGARAM ET AL., 2015). A absorção da luz UV-C gera uma reação fotoquímica das bases nucleotídicas pirimidinas vizinhas na mesma fita de ácido desoxirribonucléico (DNA). O dímero inibe a formação de novas cadeias de DNA no processo de replicação celular e, eventualmente, pode causar a morte celular (BOLTON E LINDEN, 2003 ; KOUTCHMA ET AL., 2009).

Vários estudos relataram a eficácia da tecnologia de aplicação de UV-C na eliminação e redução de uma ampla variedade de microrganismos em produtos alimentícios (MENEZES et al., 2019; UNLUTURK; ATILGAN, 2014; CARRILLO et al., 2017; POSSAS et al., 2018 entre outros). Entretanto, estudos reportam que a exposição de determinados microrganismos a condições estressantes não letais pode resultar no aumento da sua resistência a condição de estresse aplicada, ou a outros diferentes estresses (SIRSAT, 2011; YADAV, 2016). Ressaltando assim a necessidade do estudo da resistência de microrganismos que são expostos a estresses sequenciais, que podem ocorrer durante o processamento de alimentos.

A microbiologia preditiva é uma das principais alternativas para descrever o comportamento microbiano (crescimento e/ou inativação microbiana) e uma importante ferramenta para a avaliação de riscos (ZHOU et al., 2012; ZHOU et al., 2011). É uma área muito útil para a indústria de alimentos, podendo ser utilizada para prever a segurança microbiológica de produtos, identificando os pontos críticos de controle no processamento, e sendo importante no desenvolvimento de novas tecnologias. Entretanto, poucos estudos abordam a modelagem matemática na caracterização de células expostas a ambientes estressantes sequencias, como em baixa a_w (que pode levar ao Fenômeno Fênix), seguido de tratamento com radiação UV-C.

Frente ao exposto, o presente estudo objetiva avaliar e modelar o efeito da exposição ao estresse osmótico no comportamento de diferentes sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*) por luz UV-C, durante o Fenômeno Fênix.

1.1. Objetivos

1.1.1. Objetivo Geral

Avaliar e modelar o efeito da exposição ao estresse osmótico ($a_w 0,95$) na resistência ao tratamento por luz UV-C de diferentes sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*), durante a ocorrência do Fenômeno Fênix.

1.1.2. Objetivos Específicos

Para que o objetivo geral fosse alcançado, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- Obter a cinética de comportamento de *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Minnesota* e *S. Heidelberg* expostas às condições de estresse osmótico ($a_w 0,950$), incubadas a 25°C, que levam ao Fenômeno Fênix;
- Obter a cinética de inativação dos sorotipos de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Minnesota* e *S. Heidelberg*), submetidas e não submetidas ao estresse osmótico, durante o Fenômeno Fênix; utilizando diferentes doses de radiação UV – C: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m² (irradiância de 6,5 W/m², nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 minutos);
- Modelar e comparar a inativação dos sorotipos de *S. enterica* (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Minnesota* e *S. Heidelberg*), submetidas e não submetidas ao estresse osmótico, durante o Fenômeno Fênix; utilizando diferentes doses de radiação UV – C: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m² (irradiância de 6,5 W/m², nos tempos 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 minutos).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Salmonella* ssp.

O gênero *Salmonella* é pertencente à família Enterobacteriaceae. São bactérias Gram-negativas, anaeróbicas facultativas que apresentam forma de bastonetes medindo de (0,7 – 1,5 x 2,0 - 5µm) (PAULA, 2002; LEVINSON, 2005). São catalases positivas, normalmente, reduzem nitrato a nitrito e apresentam positivo para vermelho de metila. Além disso, a maioria dos sorotipos fermenta a glicose com produção de ácido e gás e não fermentam a lactose e a sacarose (SILVA et al., 2007). Estas bactérias têm em sua estrutura lipopolissacarídeos, flagelos, fimbrias, e algumas proteínas da membrana externa que contribuem na junção e/ou incursão do epitélio do trato intestinal (MENDONÇA, 2016). A maioria apresenta grande quantidade de fimbrias a fim de expandir a capacidade de fixação a diversos substratos. No geral, são móveis pela presença de flagelos peritríquios (RAVAGNANI, et al. 2012).

Salmonella spp. possui ampla faixa de atuação, com temperatura ótima de crescimento de 35-37 °C e faixa de crescimento entre 5 a 45 °C. A faixa de pH ótimo para o crescimento desses microrganismos é entre 7,0 e 7,5 com faixa de crescimento variando de 3,8 a 9,5, apresentam atividade de água mínima para crescimento de 0,94 (FORSYTHE, 2002). São microrganismos intracelulares facultativos, podendo resistir no interior de fagócitos e se multiplicar intracelularmente (RODRIGUES, 2011).

A classificação das bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella* é realizada de acordo com sua epidemiologia, reações bioquímicas e estruturas antigênicas. Nesse sentido, o gênero é composto de duas espécies geneticamente distintas: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. Sendo *Salmonella enterica* dividida em seis subespécies, denominadas: enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae e indica (BRASIL, 2011). Cada subespécie é constituída de diferentes números de sorotipos. Segundo Shinohara (2008), a sorotipificação é baseada no documento denominado Kauffmann-White Scheme, tendo por base a caracterização de seus antígenos somáticos (O) e flagelares (H), padrões de fermentação de açúcar e susceptibilidade a bacteriófagos.

Segundo as modificações taxonômicas vigentes quanto à nomenclatura, os sorotipos não são mais consideradas espécies (SILVA, 2017). Os sorotipos de *Salmonella enterica* subespécie enterica detém nomenclatura específica, a qual não deve ser escrita em itálico, mas sim com a

primeira letra maiúscula. Usualmente utiliza-se apenas o gênero da bactéria seguida do sorotipo, ficando a espécie e subespécie subentendidas (Ex: *Salmonella* sorotipo Typhimurium, ou *Salmonella* Typhimurium) (GRIMONT & WEILL, 2007). A tabela 1 mostra a distribuição das espécies com a quantidade de sorotipos conhecidos.

Tabela 1. Distribuição de sorotipos de acordo com espécie e subespécie de *Salmonella*.

Espécie/subespécie	Sorotipos
<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica	1547
<i>Salmonella enterica</i> subsp salamae	513
<i>Salmonella enterica</i> subsp. Arizonae	100
<i>Salmonella enterica</i> subsp. Diarizonae	341
<i>Salmonella enterica</i> subsp. Houtenae	73
<i>Salmonella enterica</i> subsp. Indica	13
<i>Salmonella bongori</i>	23

Fonte: GUIBOURDENCHE et al., 2010

Entre as espécies de *S. enterica*, a subespécie *enterica* apresenta maior número de sorotipos, sendo responsável por 99% dos isolamentos, usualmente de animais de sangue quente (SILVA, 2017).

Essas bactérias patogênicas são responsáveis por muitos surtos de origem alimentar e infectam principalmente o trato digestivo. De acordo com o Ministério da Saúde, dentre os agentes etiológicos responsáveis pelos surtos de DTA, no período de 2000 a 2015, o gênero *Salmonella* foi o agente mais prevalente, responsável por 14,4% dos surtos notificados (BRASIL, 2015). Entre 2007 e 2016, o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) notificou 6.632 surtos de DTAs no Brasil, sendo 90,5% deles provocados por bactérias. *Salmonella* spp foi o agente predominante quando foi possível a identificação do agente etiológico (BRASIL, 2016). Nos Estados Unidos (EUA), este patógeno também esteve amplamente envolvido em DTAs, representando 40% dos casos registrados no ano de 2012 (CDC, 2014). O *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) relata que o gênero *Salmonella* é responsável por cerca de 1,4 milhões de doentes, 15.000 hospitalizações e 400 mortes por ano nos Estados Unidos (GAST, 2008). MAJOWICZ et al. (2010) estimaram que 93,8 milhões de casos de gastroenterite devido a *Salmonella* spp. ocorrem mundialmente a cada ano, com 155.000 mortes, sendo 80,3 milhões desses casos transmitidos por alimentos.

A transmissão de *Salmonella* spp. pode ocorrer por meio da ingestão direta de água e alimentos crus ou malpassados, contendo fezes de animais contaminados. Pode ocorrer também por meio de contaminação cruzada, na qual o alimento é contaminado por meio de equipamentos, manipuladores, roedores, insetos ou até mesmo por outros alimentos, sendo esse um fator frequentemente citado nos surtos de salmonelose em estabelecimentos alimentícios (GOUVÊA, et.al, 2012; MALDONADO, 2008; CARDOSO & CARVALHO, 2006).

Clinicamente, existem dois tipos de doenças causados por *Salmonella*: salmonelose não tifóide e febre tifoide. *Salmonella* não tifi (ou não tifoide) comumente causa uma gastroenterite autolimitada entre pessoas saudáveis, embora em imunodeprimidos possa até levar a morte. Entretanto, *Salmonella* tifoide, causadora da febre tifoide, é a mais grave, apresentando maior taxa de mortalidade. Embora essa última seja mais invasiva, ela está quase sempre associada à transmissão de pessoa para pessoa, sendo menos frequentes que a não tifoide, que conta com uma ampla quantidade de reservatórios animais (SANDY, 2019). Nesse aspecto *Salmonella* não tifoide está entre as principais causas de doenças bacterianas transmitidas por alimentos nos Estados Unidos (SCALLAN et al., 2011).

Mesmo com o constante investimento em monitoria e controle, *Salmonella* spp. continua sendo um dos agentes etiológicos mais identificados nos surtos de DTA no Brasil, estando envolvido em 11,2% dos casos registrados entre 2009 e 2018 (BRASIL, 2019). Salmonelose é, portanto, considerada a zoonose mais difundida do mundo, com sua veiculação associada à ingestão de alimentos e seu ciclo de transmissão envolvendo praticamente todos os vertebrados. Seu controle representa um desafio para a saúde pública, tendo em vista também a emergência de novos sorotipos, tanto nos países emergentes quanto nos industrializados (BRASIL, 2011). O Regulamento (CR) n.º 2073/2005 da Comissão, relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios, estabeleceu a ausência de *Salmonella* spp. em 25g de alimento como requisito para obter acesso ao mercado, particularmente para economias em desenvolvimento (LAKE et al. , 2015).

2.1.1. *Salmonella enterica* Enteritidis

S. Enteritidis são bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, sorologicamente relacionados, não esporulados, não encapsuladas, móveis com flagelos peritríquios,

diferenciam-se bioquimicamente e sorologicamente por meio de testes com soros polivalente “O” e “H” e apresentam distribuição mundial (BERCHIERI J.R., 2000).

Dados da literatura reportam que *S. Enteritidis* representa 85% dos casos de salmonelose na Europa, 38% na Ásia e 31% na América Latina e no Caribe. Desde a primeira pandemia relatada em 1980, *S. Enteritidis* tem surgido como um dos principais patógenos associados à transmissão por alimentos contaminados (GALANIS et al., 2006). Embora uma tendência de queda tenha sido estabelecida nas últimas décadas, 91.857 casos de salmonelose em humanos foram registrados na União Europeia em 2018, sendo *S. Enteritidis* o sorotipo mais isolado (EFSA, 2019).

Estima-se que a introdução de *S. Enteritidis* no Brasil, ocorreu no final da década de 80, por aves reprodutoras infectadas adquiridas de países europeus (IRINO et al., 1996). O primeiro surto de infecção causado por *S. Enteritidis* no Brasil, foi descrito em 1981 (MOTA et al., 1983; KAKU et al., 1995). Em seguida, a partir da década de 90, surgiram diversos relatos de surtos de infecção alimentar em seres humanos devido, principalmente, a ingestão de produtos de origem avícola (TAUNAY et al., 1996).

A infecção causada por *S. Enteritidis* é denominada de infecção não tifoide (GELLI, 1995), que é uma doença aguda ou crônica não-específica. Esse sorotipo é patógeno de todas as espécies de mamíferos domésticos e de répteis, podendo infectá-los cronicamente, fazendo-os portadores assintomáticos, que eliminam a bactéria nas fezes. Roedores são também portadores do agente, e em conjunto com moscas, besouros, entre outros, que são vetores da bactéria, podem causar infecções em lotes sucessivos de aves. Portanto, são capazes de sobreviver e multiplicar-se com facilidade no ambiente (NASCIMENTO; SANTOS, 2005).

2.1.2. *Salmonella enterica* Typhimurium

Mundialmente, *Salmonella* Typhimurium, considerado um sorotipo não tifoide é um dos mais isolados de seres humanos, sendo responsáveis por 57-67% dos casos relatados por ano, (WHO, 2008). Entre os sorotipos frequentemente responsáveis por episódios de salmonelose humana na União Européia (UE) em 2008, *S. Typhimurium* representou 21,9% dos casos (EFSA, 2010b). Na Europa, 7,1% das salmoneloses humanas está associada a ingestão de carne suína contaminada por *S. Typhimurium* (EFSA, 2010b).

Em 2004, nos EUA, uma cadeia de supermercados foi apontada como responsável por infecções alimentares em nove estados devido à comercialização de carne moída contaminada por *S. Typhimurium* (CDC, 2006). Na Austrália em 2005, fígado de cordeiro foi responsável por um surto de *S. Typhimurium* (HESS et al., 2008). Na Europa, em 2008, 3,9% dos surtos relatados foram causados por esse sorotipo, tendo a carne de porco como alimento veiculador. (EFSA, 2010b).

S. Typhimurium na Pensilvânia, EUA, em 2007, também esteve associada a surtos, dessa vez, pelo consumo de leite cru. O agente foi isolado em seres humanos e no leite (CDC, 2007). Em 2006, 165.023 casos confirmados de salmonelose humana foram relatados pela União Europeia, através do Sistema Europeu de Vigilância (EFSA, 2009). *S. Typhimurium*, foi identificado como o agente etiológico responsável por 12,9% dos casos (BRADEN, 2006).

2.1.3. *Salmonella enterica* Minnesota

Salmonella Minnesota, considerado um sorotipo de *Salmonella* não tifoide, vem sendo muito relatada em aviculturas e está relacionada a surtos de salmonelose humana no mundo todo (SCIENTIFIC, 2014). Foi isolada pela primeira vez, em 1936, em um peru de uma granja no estado de Minnesota nos EUA (EDWARDS; BRUNER, 1938). *S. Minnesota* tem causado preocupação pelo aumento no número de isolamentos na cadeia de produção de carne de aves (FREITAS, 2011; CODA-CERVA, 2014; VOSS-RECH et al., 2015) e pelo fato de pouco se conhecer sua sobre seu potencial zoonótico (STEINEBRUNNER et al., 2013).

No Brasil, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, foi constatada a presença de *Salmonella* spp. em cerca de 2,7% das carcaças congeladas de frangos de corte em estudo realizado em 15 cidades brasileiras sendo que o sorotipo Minnesota representou cerca de 1,2 % dos isolados (MEDEIROS et al., 2011). Segundo VossRech et al. (2015) entre as *Salmonelas* paratíficas mais isoladas de aves no Brasil, o sorotipo Minnesota tem ganhado destaque, mostrando ter a maior prevalência em amostras de frango, sendo 40,24% dos isolamentos, seguido de *Salmonella. Infantis* (14,63%) e *S. Heidelberg* (7.31%). Coda-Cerva (2014) relatou um aumento representativo na ocorrência deste sorotipo em frangos de corte na Bélgica, tornando-se o segundo sorotipo mais comumente isolado neste alimento, passando de 2% em 2009 para 17,6% em 2012.

No banco de dados do *Rapid Alert System for Food and Feed* (RASFF) ocorreu relato de três identificações de *S. Minnesota* no ano de 2017 em amostras de carne de frango brasileiras. Uma cepa foi identificada na Eslováquia em peito de frango salgado congelado e duas cepas foram isoladas na Alemanha em amostras de filetes de peitos de frangos congelados, sendo um salgado e outro natural (RASFF, 2017). O alto índice de isolamentos de *S. Minnesota* na cadeia produtiva avícola (FREITAS, 2011; CODA-CERVA, 2014; VOSS-RECH et al., 2015) alerta para a capacidade intrínseca deste sorotipo em se adaptar às condições ambientais, seja na granja ou no abatedouro, e assim se fixar às superfícies, tornando estes locais pontos constantes de contaminação.

De acordo com Pickler et al. (2014), *S. Minnesota* não causa sinais clínicos nas aves, porém persiste no intestino destas, fator que favorece sua disseminação na cadeia produtiva. A presença deste gênero bacteriano na carne é indesejável e interfere na relação comercial entre os países, podendo levar até mesmo à interdição do alimento exportado (BACK; ISHIZUKA, 2010). Portanto, conhecer a patogenicidade deste sorotipo e sua resposta frente a condições ambientais, é de fundamental importância para buscar formas de controle na indústria de alimentos.

2.1.4. *Salmonella enterica* Heidelberg

Entre os sorotipos de *Salmonella*, *S. Heidelberg* está inserida no conjunto de *Salmonella* capaz de causar infecção humana (BASSANI, 2017) e têm sido citada como uma das mais frequentes nesse âmbito (CHAI, 2012). No Brasil, também é uma das cepas mais frequentemente isoladas de aves nos últimos anos. Seu controle é considerado muito difícil (FOLSTER et al., 2012).

O sorotipo Heidelberg é considerado invasivo e capaz de causar doenças com maior gravidade ao homem, apresentando uma alta porcentagem de casos que necessitam de hospitalização e uma frequente resistência aos antimicrobianos (CHITTICK et al., 2006; CURRIE, et al., 2008; COLLA et al., 2012).

S. Heidelberg é o terceiro isolado mais frequente na avicultura no Canadá e o quarto em doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos (CHITTICK et al., 2006). Também no Canadá, *S. Heidelberg* é destaque em saúde pública e alterna com *S. Enteritidis* a posição de segundo ou terceiro sorotipo mais isolado em humanos (DEMEZUK; SOULE; CLARK, 2003).

Esse sorotipo vem se apresentando emergente, a partir do ano de 2004, particularmente em países da América do Norte e leste europeu (BRASIL, 2012).

No Brasil, desde 1962, *S. Heidelberg* tem sido identificada em aves e produtos derivados (HOFER; SILVA FILHO; REIS, 1997). Heidelberg é um dos sorotipos de maior ocorrência em análises de controle no sul do Brasil. Entre 2012 e 2014, a frequência registrada deste sorotipo foi de 20 a 33% em amostras positivas para *Salmonella* spp., ocupando a terceira posição em isolados em granjas produtoras de frango (VOSS-RECH et al., 2015). Estudos têm mostrado a tendência de aumento do seu isolamento (NASCIMENTO et al., 1997; DICKEL, 2004; REZENDE et al., 2005).

Em 2017, o Centro de Controle de Prevenção de Doenças (CDC, do inglês *Center for Disease Control and Prevention*), divulgou informações sobre a intoxicação por *Samonella Heidelberg* que ocasionou surto em vários estados nos EUA. Seu relatório continha relatos de infecção que atingiu 18 estados dos Estados Unidos e provocou o adoecimento de centenas de pessoas, foi emitido um alerta de saúde pública em relação ao frango cru empacotado em três unidades da empresa Foster Farms na Califórnia. No tratamento aos doentes, as cepas de surto de *S. Heidelberg* foram resistentes a vários antibióticos comumente prescritos, dificultando o seu tratamento (MACHADO, 2018).

Em função dos riscos que *S. Heidelberg* representa para a comunidade e dos números representativos de cepas isoladas, são necessárias medidas de controle mais eficazes para reduzir a contaminação das carcaças, impedindo a entrada deste micro-organismo na cadeia alimentar, evitando surtos de gastroenterite em seres humanos (MENDONÇA, 2011).

2.2. Condições de estresse

A capacidade de crescimento e sobrevivência depende de várias condições ambientais, tais como, quantidades adequadas de nutrientes, oxigênio, soluto, atividade de água (a_w), temperatura e pH ideais. Porém, a alteração de qualquer um desses parâmetros, pode caracterizar um estresse para a célula bacteriana, letal ou sub-letal, levando a uma alteração na sua cinética de crescimento (SPECTOR; KENYON, 2012). Estudos reportam que, quando submetidos a condições ambientais estressantes, diferentes respostas no comportamento microbiano podem ser encontradas (MELLEFONT; MCMEEKIN; ROSS, 2005; ZHOU et al., 2012).

Microrganismos podem enfrentar diferentes intensidades de estresse, desde um estresse leve, onde a velocidade de crescimento é reduzida, mas as células se adaptam completamente à nova condição, até o estresse letal em que as respostas podem levar à morte da célula, passando pelo estresse extremo, onde ocorre a inibição do crescimento e as células sacrificam suas fontes de reserva para sobreviver (YOUSEF E COURTNEY, 2003). A aplicação de uma condição de estresse mais intensa pode levar à injúria, caracterizada pelo decréscimo na resistência a agentes seletivos e pelo aumento no requerimento nutricional. Essas células injuriadas podem ser recuperadas facilmente utilizando-se meios de enriquecimento não seletivos. (MONTVILLE, 1997).

A capacidade de reconhecer e adaptar-se a variações ambientais estressantes são cruciais para a sobrevivência microbiana (FOSTER; SPECTOR,1995). Especialmente para patógenos que estão sujeitos a condições desfavoráveis e uma variedade de tensões antimicrobianas também no ambiente comercial, industrial e ainda pelo próprio hospedeiro, quando infectado (FOSTER; SPECTOR,1995; SPECTOR; KENYON,2012; WINFIELD; GROISMAN, 2003).

Em alimentos, o microrganismo está sujeito a condições “ambientais” variáveis e que afetam o seu comportamento. Na indústria de alimentos, fatores como: a disponibilidade de nutrientes, temperatura, pH e a atividade de água (a_w), entre outros, podem ser modificadas - intencionalmente ou não, por exemplo por processos de conservação de alimentos, sendo, portanto, obstáculos às células bacterianas (ALVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2015; ULTEE et al., 2019).

Considerando o emprego de métodos de conservação de alimentos, os microrganismos podem estar presentes em uma amostra sob três estados: inviabilizados (apresentando injúria letal e impossibilidade de multiplicação), com injúria subletal (apesar de ter sofrido danos em suas estruturas celulares, encontra-se hábil para multiplicação sob condições favoráveis) e viáveis (COSTA & FERREIRA, 1991; BAATI et al., 2000; VIEIRA et al., 2007). Apesar dos tratamentos aplicados no processamento e conservação de alimentos terem o objetivo de inibir o crescimento microbiano, eles podem apenas estressar e/ou lesionar as células microbianas, que possuem a capacidade de resistir a essas circunstâncias. Quando conseguem adaptar-se ao estresse, são capazes de resistir a tratamentos posteriores, ou ainda, resistem à passagem pelo estômago e barreiras intestinais quando confrontadas com sistema de defesa do hospedeiro (ALVAREZ-ORDÓÑEZ, et al. 2015). A exposição de bactérias patogênicas a condições

estressantes não letais pode, portanto, resultar no aumento da sua resistência a condições de estresse aplicada, ou a outros diferentes estresses (SIRSAT et al., 2011; YADAV et al., 2016).

Melo (2016) estudou os efeitos da exposição subsequente a estresses abióticos na termotolerância e sobrevivência em condições gastrointestinais simuladas de *S. Enteritidis* PT4 e *S. Typhimurium* PT4. A autora observou que células de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* previamente expostas ao estresse ácido mostraram maior tolerância ao estresse osmótico em comparação com células não expostas ao ácido. Ainda, a exposição subsequente a condições de estresse: frio, ácido e osmótico, aumentou a termotolerância e a sobrevivência em condições gastrointestinais de *S. Enteritidis* PT4 e *S. Typhimurium* PT4, apresentando taxas de sobrevivência maiores que as células controle no final da digestão *in vitro*.

De acordo com Rando e Verstrepen (2007), respostas adaptativas ao estresse podem ocorrer devido a mutações genômicas, que acontecem na população afetada por um ambiente de pressão seletiva. Abee (1999) sugere que uma resposta transitória ao estresse, geralmente resulta de uma mudança característica no padrão de expressão genômica, com isso, observa-se respostas fisiológicas como alteração do DNA, proteínas, lipídios. Booth (2002), sugeriu que a heterogeneidade de populações bacterianas e a diversidade encontrada, que é inerente de células individuais, é um auxílio à sobrevivência após exposição ao estresse. A autora atribui, portanto, o comportamento de sobrevivência ao fato de que o inóculo é constituído de uma população heterogênea na qual algumas células podem ter uma concentração maior de determinada proteína, o que as ajuda a lidar com o estresse.

Nesse sentido, o conhecimento das respostas e estratégias de patógenos para sobrevivência ao estresse, tem relevância significativa na epidemiologia e patogenicidade dessas bactérias (D'AOUST et al., 2007), sendo que essa pode contribuir para a persistência deste patógeno na matriz alimentar e no hospedeiro (MELO, 2016).

2.2.1. Estresse Osmótico

Dentre os tipos de estresse, o estresse osmótico é um dos mais comumente encontrados no processamento de alimentos, seja pela adição de soluto, ou pela evaporação da água. O cloreto de sódio (NaCl), é constantemente usado em alimentos, como conservante, realçador de sabor ou ainda como agente antimicrobiano. Sua utilização pode causar lesões às células bacterianas, desestabilizando o equilíbrio osmótico entre os ambientes citoplasmático e

intracelular, levando a obtenção de diferentes respostas microbianas (SPECTOR e KENYON, 2012; TIGANITAS et al., 2009; ZHOU et al., 2011).

O comportamento microbiano pode ser influenciado pela presença de solutos, como quando ocorre a adição de NaCl no processamento de alimentos, proporcionando um ambiente osmótico variado. Quando submetidas à ambientes osmóticos estressantes, as células microbianas apresentam manifestações genéticas e fisiológicas. Nesses casos, elas necessitam de respostas imediatas, afim de equilibrar rapidamente a pressão osmótica, e reajustar a longo prazo às condições osmóticas no ambiente circundante (SLEATOR et al., 2001; SPECTOR e KENYON, 2012).

Koutsoumanis (2008) estudou os limites de crescimento de células individuais de *S. Enteritidis* expostas ao estresse osmótico e relatou que conforme a concentração de NaCl aumenta, o número de células na população capaz de crescer diminui gradativamente. Aguirre e Koutsoumanis (2016) confirmaram os achados acima para células tratadas termicamente e não tratadas de *Listeria monocytogenes*. Ambos os estudos mostraram um comportamento biestável de células individuais (crescimento/sem crescimento) sob estresse osmótico, o que leva a um atraso adicional no crescimento populacional (chamado de “pseudo-lag”) com o atraso aparente total da população sendo a soma dos fatores fisiológicos atraso das células em crescimento (tempo necessário para se ajustar ao novo ambiente) e o pseudo-atraso induzido pela presença de células que não crescem.

A redução da a_w no ambiente externo normalmente resulta em uma perda rápida do volume citoplasmático em um processo denominado plasmólise e causa redução na respiração e na parada do crescimento, enquanto o ATP intracelular e o pH citoplasmático aumentam (WEBER, KOGL, JUNG, 2006; CSONKA, 1989). Para se adaptar ao estresse hiperosmótico, as bactérias utilizam mecanismos adaptativos denominados sistemas osmorregulatórios. Uma das principais atribuições desses sistemas é manter a pressão osmótica intracelular adequada dentro de limites toleráveis. Isso geralmente envolve o acúmulo de solutos carregados (por exemplo, íons de potássio (K^+) e glutamato), seguido pelo acúmulo de solutos compatíveis por meio *de biossíntese de novo* (por exemplo, trealose) ou pela absorção do ambiente externo (por exemplo, glicina betaína e prolina) (CHUNG, BANG, DRAKE, 2006; O'BYRNE, BOOTH, 2002).

Como mencionado acima, alguns dos mecanismos de sobrevivência que a *Salmonella* desenvolve nessas condições de ambiente de baixa atividade de água são: o acúmulo de

metabólitos osmoprotetores no meio intracelular para evitar a perda de água, além de: mudança dos fatores sigma que direcionam a transcrição para produzir proteínas de resposta aos estresses e entrada ao estado metabolicamente ativo baixo chamado de viável, mas não cultivável (VNC) (FINN et al., 2013; MUTZ et al., 2019; OLIVER, 2010). Quando em condições ambientais favoráveis, as células nesse estado podem retornar ao estado metabólico normal e se desenvolverem (PODOLAK et al., 2010), ocasionando um potencial risco a população uma vez que essas células nesse estado não são identificadas por análises convencionais.

Além disso, estudos vem relatando com mais frequência que as células bacterianas previamente expostas ao estresse osmótico (isto é, células adaptadas osmoticamente) adquirem maior resistência a outros estresses, como alta temperatura e estresse oxidativo (CHUNG, BANG, DRAKE, 2006; GUNASEKERA, CSONKA, PALIY, 2008). Uma compreensão detalhada de como elas se adaptam ao estresse osmótico pode ajudar na identificação de alvos potenciais e desenvolver alternativas eficazes para controlar ou eliminar estes patógenos.

2.2.2. Fenômeno Fênix

Alguns microrganismos em condições próximas aos seus limites de crescimento, apresentam comportamento caracterizado pela redução da população microbiana, seguida por recuperação e volta do crescimento, com o aumento de contagem, denominado como Fenômeno Fênix (ASPRIDOU; AKRITIDOU; KOUTSOUMANIS, 2018; BARANYI et al., 2010; MELLEFONT; MCMEEKIN; ROSS, 2005), reportado pela primeira vez por Colle, Knowlden e Hobbs em 1961 para *Clostridium Welchii*.

Estudos disponíveis na literatura para diferentes microrganismos observaram a ocorrência do Fenômeno Fênix, quando as células foram expostas a condições sub-letais (BUSTA, 1978; KELLY et al., 2003; KING et al., 2014; MACKEY; DERRICK, 1982; THOMPSON-COLLINS; HURST; KRUSE, 1973, entre outros). Kelly et al. (2003), avaliou o crescimento de *Campylobacter jejuni* em temperaturas próximas ao mínimo para o seu crescimento e constatou que as culturas cultivadas em caldo a 39 °C e posteriormente subcultivadas em meio fresco a 30 °C, apresentaram um período transitório rápido de crescimento seguido por um declínio no número de células viáveis antes da retomada do crescimento. Os autores sugerem que este comportamento é o efeito líquido do crescimento de

células de inóculo seguido por uma perda de viabilidade devido ao estresse sofrido e a existência de uma população mutante que surge espontaneamente e assume a cultura.

Mellefont, Mcmeekin e Ross (2005) observaram a ocorrência do Fenômeno Fênix ao avaliar as respostas de *S. Typhimurium* expostas a condições osmóticas estressantes. Imediatamente após a mudança de a_w ideal, 0,993, para uma menor a_w , 0,974; 0,969; 0,966; 0,963; 0,959 e 0,954, eles observaram a ocorrência de inativação de uma parcela da população para todas as condições testadas sendo que o grau de inativação tornou-se progressivamente maior em menores a_w . O declínio inicial da população foi seguido por um período durante o qual não ocorreu nenhuma mudança nos números, seguido por um crescimento que parecia, na maioria dos casos, ser exponencial. Eles atribuíram esse comportamento, a ocorrência de duas fases, uma de inativação inicial de parte da população microbiana (ao invés de perda de cultivabilidade), seguida de uma fase de crescimento. Shoemaker e Pierson (1976), afirmaram ao reportar o Fenômeno Fênix para *Clostridium perfringens*, que esse comportamento passa por três fases: lesão, recuperação e crescimento microbiano.

Zhou et al. (2011), após a exposição de *S. Typhimurium* a concentrações de sal variando de 0,5 a 7,5%, observaram a diminuição inicial da contagem da população bacteriana, seguida pela retomada do crescimento. Eles atribuíram esse comportamento a adaptação das células ao novo ambiente (baixa a_w), e o trabalho de adaptação das células.

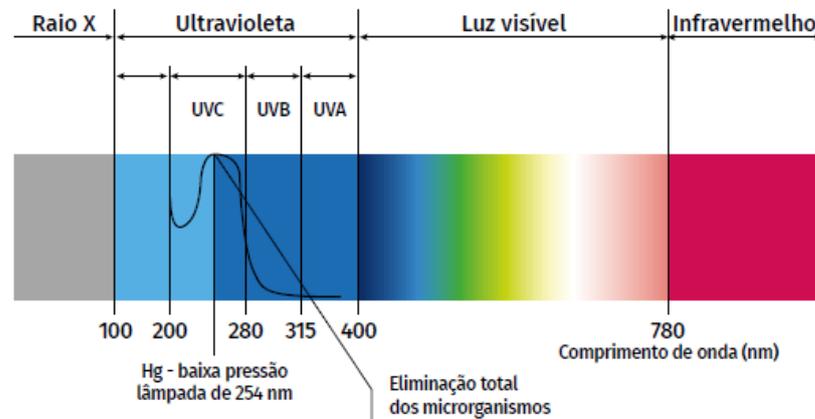
Aspidou, Akritidou e Koutsoumanis (2018) avaliaram o Fenômeno Fênix em *Salmonella entérica* Agona exposta a condições de estresse osmótico. Métodos de contagens viáveis e microscopia de lapso de tempo foram usados para monitorar o crescimento, sobrevivência e morte de células individuais desse patógeno em meio na presença de várias concentrações de sal (0,5%, 3,5%, 4,5% e 5,7% de NaCl). Os autores afirmaram com base nos resultados que este fenômeno envolve três fases simultâneas: crescimento, sobrevivência e a morte celular.

2.3. Radiação ultravioleta (UV-C)

A luz ultravioleta (UV) é uma radiação eletromagnética que se destaca por apresentar aplicações, como tratamento de efluente, água, alimentos, descontaminação de superfícies, desinfecção do ar e derivação fotoquímica (KOUTCHMA et al., 2009; GOUVÊA et al., 2014).

Ela corresponde à porção do espectro eletromagnético que se encontra entre os raios X e a luz visível e é subdividida em três bandas: UV-A (315 a 400 nm), UV-B (280 a 315 nm) e UV-C (100 a 280 nm) (Figura 1). A faixa ultravioleta de onda curta, UV-C, é conhecida por ter efeito biocida, sendo eficiente na inativação de microrganismos patogênicos e deteriorantes, principalmente no comprimento de 254 nm (KOUTCHMA, 2009; BINTSIS et al., 2000; CAMINITI et al., 2012).

Figura 1: Espectro eletromagnético



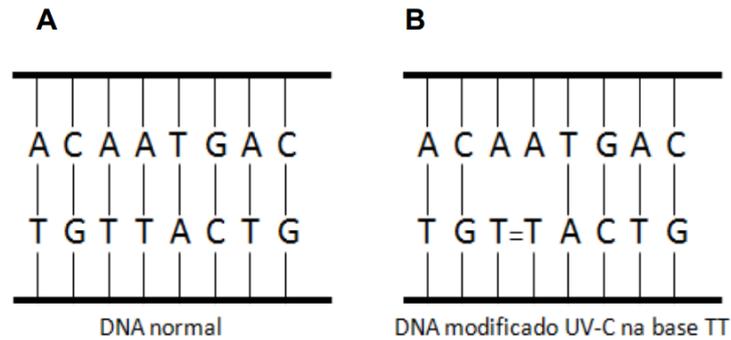
Fonte: MONTALLI, 2020

Por causa do seu efeito, a radiação UV-C vem sendo aplicada em ampla variedade de microrganismos, sendo capaz de inativar vírus, bactérias, fungos, leveduras, protozoários e algas (ORTIZ, 2020). Na literatura existem vários trabalhos que comprovam o efeito biocida da luz UV-C na inativação de microrganismos, como na inativação de *Neosartorya fischeri* (MENEZES et al., 2019) e *Paecilomyces niveus* (ORTIZ, 2020) em suco de maçã, *Escherichia coli* e *Salmonella* senftenberg em pele e músculo de porco (WONG et al., 1998), *Listeria monocytigenes* na carne de frango (KIM et al., 2002) e *S. Typhimurium* em carcaça de aves (WALLNER-PENDLETON et al., 1994).

O efeito biocida ocorre quando a radiação UV-C atinge a superfície do microrganismo ultrapassando a membrana celular e danificando seu material genético, o DNA. Os fótons de UV-C absorvidos causam o deslocamento de elétrons, provocando a quebra de algumas ligações e resultando na formação de fotoprodutos, que inibem a transcrição e replicação do DNA e levam à chamada morte clonogênica (BOLTON; LINDEN, 2003). O dano ao DNA ocorre por meio da formação de dímeros de pirimidina, especialmente de timina. A formação de dímeros de timina é o processo de rompimento das bases nitrogenadas adenina e timina (AT)

do DNA. Assim, se estabelece uma nova ligação química entre duas timinas, constituindo a ponte TT (Figura 2). A nova ligação impede a replicação e a transcrição do DNA, levando a morte do microrganismo (LAGUNAS, 2006; SEVCAN et al., 2008; CHEIS, 2013).

Figura 2 - Efeito biocida da luz UV-C no DNA de microrganismo



Fonte: MENECELLI, 2017

O efeito biocida difere entre os microrganismos. Devido às suas características, uns são mais resistentes que outros. A sensibilidade pela radiação UV-C varia de acordo com a estrutura da parede celular, composição, espessura, presença de proteínas que absorvem radiação UV-C na estrutura dos ácidos nucleicos, e capacidade de reparo do DNA dos micro-organismos (GIESE; DARBY, 2000; SHAMA, 2003). Nesse sentido, em alimentos líquidos, as bactérias demonstram menos resistência ao tratamento por UV-C que os fungos e leveduras. (KOUTCHMA, 2009). Ainda, outros fatores interferem na letalidade por luz UV como as condições de processamento, propriedades do meio e as condições ambientais. (SOUZA; KOUTCHMA, 2020). A exposição de bactérias patogênicas a condições estressantes não letais também pode resultar no aumento da sua resistência às condições de estresse aplicada (SIRSAT, 2011; YADAV, 2016; MELO, 2016) podendo esse ser outro fator influente na letalidade por radiação UV-C.

Devido aos avanços da ciência e às novas abordagens de engenharia, a luz UV-C tem se destacado como uma tecnologia não térmica promissora para tratamento de alimentos. Vários estudos relataram sua eficácia na eliminação e redução de uma ampla variedade de micro-organismos em produtos alimentícios (ORTIZ, 2020). Liltved e Landfald 2000, citam o uso da UV-C na indústria alimentícia onde é aplicada para diferentes finalidades: processamento de vegetais, redução de microrganismos patogênicos em carnes vermelhas, frango e peixes.

Yaun et al. (2004) utilizaram a radiação UV para reduzir a população de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* O157: H7 na superfície de maçãs e outros vegetais e descobriram que UV-C foi mais eficaz contra estes patógenos do que 20-320 ppm de cloro. Liu, et al. (2015) avaliaram um sistema de luz UV para descontaminação de *E. coli* O157: H7 e *Salmonella* spp. em mirtilos. Os resultados demonstraram que a eficácia da descontaminação deste sistema foi tão eficaz quanto a lavagem com cloro, indicando que ele poderia ser utilizado como uma alternativa à lavagem com cloro para mirtilos e outros produtos frescos. Chun, et al. (2009), investigaram a aplicabilidade da irradiação UV-C na inativação de bactérias patogênicas de origem alimentar, *Listeria monocytogenes*, *S Typhimurium*, e *Campylobacter jejuni*, em presunto fatiado pronto para comer. Os autores constataram que a dose de irradiação necessária para a redução de 90% dessas populações foram 2,48, 2,39 e 2,18 J/m² respectivamente.

A radiação UV-C já vem sendo utilizada comercialmente para o tratamento de produtos líquidos, visto que a regulamentação da *Food and Drugs Administration* (FDA) aprovou, em 2000, o uso dessa tecnologia como alternativa ao tratamento de pasteurização em sucos naturais (FDA, 2004); e na Europa, ela já vem sendo usada para desinfecção de água e ar e na indústria alimentícia.

No Brasil, a regulamentação da irradiação de alimentos existe desde 1973 sendo a legislação brasileira vigente a RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, da ANVISA, a qual autoriza o uso do tratamento para qualquer alimento, de acordo com as normas de boas práticas aplicáveis, não estabelecendo limites quantitativos, "desde que a dose mínima absorvida (quantidade de energia absorvida por unidade de massa) seja suficiente para alcançar a finalidade pretendida; e a máxima seja inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento"(CAMARGO, 2001).

Nesse aspecto, é notável que a radiação UV- C vem ganhando cada vez mais interesse industrial pelo seu potencial de preservação de alimentos como alternativa ao tratamento térmico convencional (KOUTCHMA et al., 2009).

Quanto à qualidade microbiológica do produto alimentício através da utilização de radiação ultravioleta, o alimento deve ser exposto a uma determinada dose de UV-C que garanta a redução microbiana exigida. A dose de UV-C, chamada também de fluência, é um parâmetro de processo que interfere na letalidade do micro-organismo e refere-se à energia incidida na superfície do produto alimentício por unidade de área, que é medida em joule por metro quadrado (J/m²). A intensidade da radiação UV-C também é dada como intensidade de fluxo

ou irradiância, e é medida em watt por metro quadrado (W/m^2). Basicamente, é a energia recebida da lâmpada pela amostra por unidade de área por segundo durante o tratamento (SOUZA; KOUTCHMA, 2020; GÓMEZ-LÓPEZ et al., 2007).

Guerrero-Beltrán e Barbosa-Cánovas (2004) esclareceram que a luz UV, por se tratar de um processo físico no qual a energia é o meio germicida, tem diversas vantagens: não gera subprodutos que poderiam alterar o sabor, odor e cor no alimento, não gera resíduos químicos, é um processo frio, a seco, simples, efetivo e de baixo custo em relação a outros processos de esterilização, além de não gerar qualquer tipo de radioatividade ionizante (radiação gama).

2.4. Microbiologia preditiva

A microbiologia preditiva abrange áreas como matemática, engenharia, química e microbiologia (ZWIETERING et al., 1990; ZWIETERING et al., 1993; WHITING e BUCHANAN, 1994; PELEG, 1997; SCHAFFNER e LABUZA, 1997) para descrever o comportamento de microrganismos e, assim, estudar e prever a vida útil dos alimentos. O principal objetivo é utilizar modelos matemáticos para descrever a evolução de microrganismos sobre a influência de fatores ambientais intrínsecos (pH e atividade de água) e fatores extrínsecos (ZURERA-COSANO et al., 2006). A modelagem preditiva pode ser uma ferramenta útil na análise preliminar de perigos, identificação e estabelecimento de pontos críticos de controle, ou ainda em ações corretivas a serem tomadas após constatação de uma contaminação (BROUGHALL e BROWN, 1984).

Um modelo microbiológico preditivo descreve o crescimento, sobrevivência, inativação ou processo bioquímico de um microrganismo de origem alimentícia (MCDONALD E SUN, 1999). Diversos modelos podem ser encontrados e são classificados em um sistema proposto por Whiting e Buchanan (1993), no qual agrupa os diferentes tipos de modelos em: Modelos primário, secundário e terciário, que é feita dependendo da característica de cada modelo.

Segundo McDonald e Sun (1999), os modelos primários descrevem a mudança do número bacteriano com o tempo considerando condições ambientais e particulares de cada microrganismo. A resposta microbiana pode ser obtida diretamente, pela densidade populacional (contagem de placas (CP), microscopia), indiretamente (absorbância, impedância) ou por produtos do metabolismo microbiano (produção de ácido, síntese toxinas) (HUANG, 2014; WHITING; BUCHANAN, 1993). Nesses casos, os dados coletados podem ser plotados

usando um modelo primário, sendo que o mais utilizado na literatura é o modelo de Baranyi e Roberts (1994), que se destaca pela facilidade no uso, disponibilidade de softwares com as equações já inseridas e bom ajuste.

Os modelos secundários descrevem a resposta de um ou mais parâmetros de um modelo primário, mudanças nas condições do meio de cultivo ou ambientais, como variações de temperatura por exemplo (WHITING; BUCHANAN, 1993). Os modelos terciários, por sua vez, levam a modelagem à sua forma final, são aplicações de um ou mais modelos primários e secundários, incorporados em um pacote de software de computador (MCDONALD e SUN, 1999).

A modelagem preditiva pode ajudar na análise preliminar de perigos, identificação e estabelecimento de pontos críticos de controle, ou ainda em ações corretivas a serem tomadas (BROUGHALL e BROWN, 1984). Nesse sentido, o uso de modelos preditivos para simular o comportamento microbiano tem aumentado nos últimos anos (MUÑOZ-CUEVAS; METRIS; BARANYI, 2012; NOVIYANTI et al., 2018; NYCHAS; SKANDAMIS; BARKER, 2011). Entretanto a maioria dos modelos disponíveis se concentra na descrição do comportamento microbiano frente a condições ambientais favoráveis ou desfavoráveis, demonstrando pouca representatividade no caso de ambientes estressantes, como em baixa a_w , que levam ao Fenômeno Fênix (KOUTSOUMANIS et al., 2016 ; KOUTSOUMANIS E ASPRIDOU, 2016).

2.4.1. Modelagem Matemática do comportamento microbiano sob condições de estresse osmótico

Poucos estudos estão disponíveis na literatura sobre modelos matemáticos capazes de descrever a recuperação das células bacterianas expostas a condições estressantes, chamado de Fenômeno Fênix (MELLEFONT; MCMEEKIN; ROSS, 2004; RHODES; KATOR, 1988). Para a realização da modelagem matemática do comportamento microbiano em condições de estresse osmótico, é necessário o desenvolvimento de modelos que possam descrever o efeito do ambiente na duração da fase lag, tendo em vista que em um ambiente desfavorável, a redução considerável da população torna mais difícil a previsão dessa fase (AGUIRRE; BORNEO E LEON, 2013). Assim, a compreensão da fase lag é indispensável para aplicação e utilização dos modelos preditivos na segurança e controle da qualidade de alimentos (ZHOU et al., 2011). Contrário ao que ocorre na real fase lag, quando toda população microbiana tem a capacidade

de se multiplicar e crescer, em condições de estresse, Pirt (1975), verificou a existência de uma subpopulação de células incapaz de crescer. Nessa circunstância, ele define a fase lag como a lag aparente, no qual nem todas as células presentes inicialmente tem a capacidade de crescer.

Zhou et al. (2011), com o objetivo de representar o Fenômeno Fênix observado em *S. Typhimurium* exposta a condição de estresse, realizaram uma revisão da fase lag, e uma modificação do modelo de Baranyi e Roberts (1994), com intuito de considerar o período de declínio inicial observado durante o Fenômeno Fênix. Os autores propuseram que a curva de contagem da população total era dada pela soma de duas subpopulações, uma morrendo e outra sobrevivendo e crescendo. A fase lag foi, portanto, definida como a lag da população sobrevivendo e foi descrita por um parâmetro que quantifica o trabalho bioquímico que as células sobreviventes realizam durante esse período.

Mellenfont, Mcmeekin e Ross (2003, 2004, 2005), utilizaram o tempo lag relativo (TLR), definido pela razão entre o tempo lag e o tempo de duplicação, para avaliar o trabalho bioquímico que células de *S. Typhimurium* sobreviventes, realizam durante o período da fase lag e assim descrever o tempo necessário para o crescimento das células. Os experimentos foram realizados para uma ampla faixa de mudanças osmóticas, e demonstraram que para condições de baixa a_w , observa-se maiores TLRs durante o Fenômeno Fênix.

Aspridou, Akritidou e Koutsoumanis (2018) propuseram uma modelagem para representar o comportamento de *Salmonella* sob estresse osmótico. Nessas condições, os autores consideraram a existência de três (sub) populações de células com comportamento diferente. Para a primeira subpopulação, todas as células estão se dividindo e a população aumenta a uma taxa de crescimento conhecida sem lag. A segunda subpopulação consiste em células que são capazes de sobreviver e a concentração permanece constante ao longo do tempo enquanto todas as células, na terceira subpopulação, estão morrendo e a população é reduzida a uma certa velocidade. Assim, para vários pontos de tempo, a soma das concentrações de cada subpopulação foi estimada. Eles constataram que as células pertencentes de cada subpopulação mantiveram a mesma resposta (crescimento, sobrevivência ou inativação) ao longo do tempo.

Paganini et al. (2021) (artigo submetido) propôs um modelo matemático para ajustar a cinética do comportamento microbiano, Fenômeno Fênix. Os autores consideraram que a concentração microbiana total (N_t , UFC/mL) exposta ao estresse osmótico foi a soma de duas subpopulações: células inativadas (N_i , UFC/mL) e células sobrevivendo e então crescimento (N_g , UFC/mL), conforme mostrado na Equação (1).

$$N_t = N_i + N_g \quad (1)$$

A transformação logarítmica de N ($y_t = \log N_t, y_i = \log N_i$, e $y_g = \log N_g$) foi aplicada para fins de modelagem. Em seguida, a Equação (1) foi reescrita na forma de logaritmo, conforme mostrado na Equação (2).

$$y_t = \log(10^{y_i} + 10^{y_g}) \quad (2)$$

Na Equação (2), y_i e y_g foram substituídos por equações matemáticas que descrevem a dependência do tempo das subpopulações inativadas e sobrevivendo e então crescentes. O y_i (log UFC/mL) ao longo do tempo t (h) foi ajustado com o modelo cinético de primeira ordem tradicional (Geeraerd et al., 2005), como mostrado na Equação (3), com $y_i(0) = y_{i,0}$, em que $y_{i,0}$ (log UFC/mL) é o logaritmo da concentração inicial de células da subpopulação inativada e k_{max} (1/h) é a velocidade de inativação específica máxima da subpopulação inativando.

$$\frac{dy_i}{dt} = \frac{k_{max}}{\ln 10} \quad (3)$$

O y_g (log UFC/mL) ao longo do tempo foi ajustado com o modelo de Baranyi e Roberts (1994), Equações (4) e (5), com $y_g(0) = y_{g,0}$ e $Q(0) = Q_0$. Para essas equações, $y_{g,0}$ (log UFC/mL) é o logaritmo da concentração inicial de células da subpopulação sobrevivendo e depois crescente, λ é o tempo necessário para a população sobrevivente iniciar o crescimento, μ_{max} (1 / h) é a velocidade específica máxima da subpopulação sobrevivendo e então crescente, e y_{max} (log UFC/mL) é o logaritmo da concentração máxima de células da subpopulação sobrevivendo e então crescente.

$$\frac{dy_g}{dt} = \frac{\mu_{max}}{\ln 10} \left(\frac{1}{1+e^{-Q}} \right) (1 - e^{y_g - y_{max}}) \quad (4)$$

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{\mu_{max}}{\ln 10} \quad (5)$$

As equações diferenciais (3), (4) e (5) podem ser resolvidas algebricamente quando os fatores extrínsecos e intrínsecos são considerados constantes. Assim, as soluções explícitas de y_i (da Equação (3)) e y_g (das Equações (4) e (5)) podem ser substituídas na Equação (2) para descrever y_t (log UFC/mL) ao longo do tempo, ou seja, para descrever o Fenômeno Fênix, conforme mostrado na Equação (6).

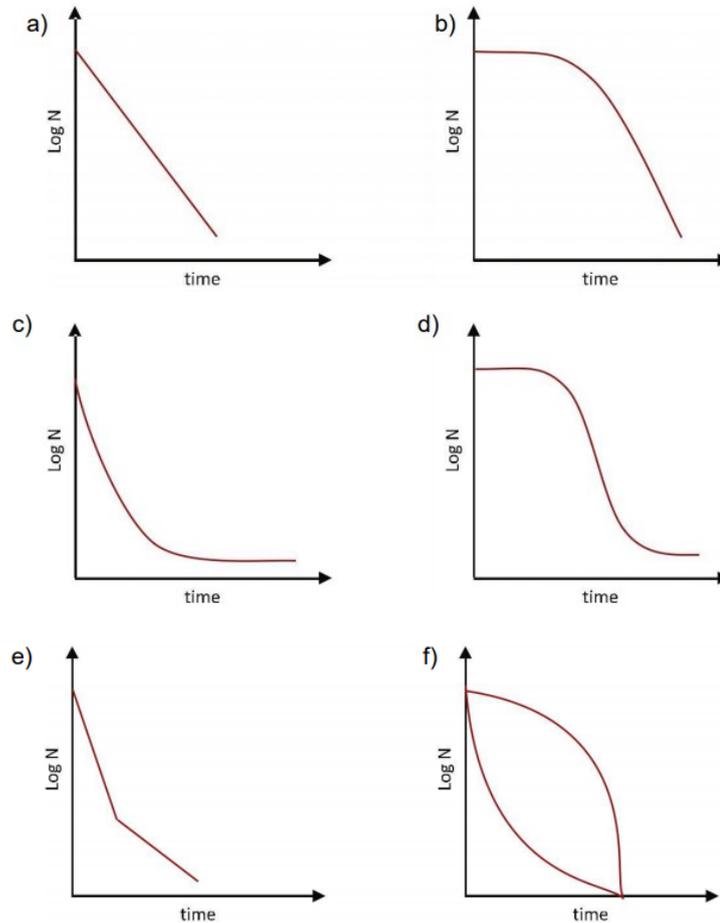
$$y_t = \log \left((1 - R_0) 10^{y(0) + \frac{k_{max} t}{\ln 10}} + 10^{y_{max} + \ln \left(\frac{1 + e^{-\frac{\mu_{max} \lambda}{\ln 10} \left(e^{\frac{\mu_{max} t}{\ln 10}} - 1 \right)}}{e^{y_{max} - y(0) - \log(R_0)} + e^{-\frac{\mu_{max} \lambda}{\ln 10} \left(e^{\frac{\mu_{max} t}{\ln 10}} - 1 \right)}} \right)} \right) \quad (6)$$

2.4.2. Modelos Matemáticos de Inativação

Vários modelos preditivos são propostos na literatura para descrever a inativação de micro-organismos. Dentre eles: Weibull, Baranyi e Roberts, log-linear, loglinear com ombro e/ou cauda, bifásico, Gompertz modificado, Geeraerd, entre outros (GEERAERD et al., 2005; BARANYI; ROBERTS, 1994). Nesse sentido, diferentes curvas de inativação podem ser obtidas.

As comumente observadas estão representadas na Figura 3. A curva log-linear (Figura 3a) segue uma cinética de primeira ordem, na qual descreve a redução no número de log de sobreviventes diminuindo de maneira linear com o tempo, sendo que a principal vantagem desse método é a sua facilidade de uso. (SCHAFENER; LABUZA, 1997). Ainda, devido à heterogeneidade na inativação, que depende de variáveis microbiológicas e experimentais, existem curvas de inativação que apresentam uma parte linear com a presença de ombro (Figura 3b), cauda (Figura 3c), ou ombro e cauda (Figura 3d) (KOUTCHMA, 2009; GEERAERD et al., 2000). As curvas bifásicas (Figura 3e) elucidam um comportamento log-linear de duas subpopulações com diferentes resistências microbianas (CERF, 1977). E as curvas de sobrevivência (Fig. 3f) exibem o comportamento com concavidade para cima e para baixo (PELEG, 2006; MAFART et al., 2002).

Figura 3 - Curvas de sobrevivência: (a) log-linear; (b) log-linear com ombro; (c) log-linear com cauda; (d) log-linear com ombro e cauda; (e) bifásica; (f) côncava para cima e para baixo;



Fonte: SOUZA; KOUTCHMA, 2020

Tendo abordado os principais comportamentos de inativação microbianos, será apresentado o modelo primário utilizado no presente estudo para avaliar a cinética de inativação por radiação UV-C de diferentes sorotipos de *S. enterica*.

2.4.2.1. Modelo de Weibull

O modelo de Weibull foi proposto por Waloddi Weibull em 1936 e apresenta simplicidade e versatilidade matemática para descrever curvas de cinética microbiana. Devido a isso, o modelo de Weibull descreve muito bem o comportamento de inativação, servindo tanto

para modelagem de curvas log lineares quanto para curvas não log-lineares (PELEG, 2006). O modelo de Weibull está representado na equação abaixo:

$$\log\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\left(\frac{d}{\delta}\right)^p \quad (7)$$

Onde:

$N(t)$ – População de microrganismos no instante t (UFC/mL);

N_0 – População inicial de micro-organismos (UFC/mL);

d – dose (KJ/m²);

δ – Fator de escala (KJ/m²);

p – Fator de forma.

No modelo de Weibull, a concavidade da curva de sobrevivência é uma expressão das diferentes formas de inativação dos microrganismos presentes, o termo p é que relaciona essa variável (MENEZES, 2020). A curva com concavidade voltada para baixo ($p > 1$) representa que a população diminui gradualmente, logo, o tempo necessário para destruir a mesma fração de micro-organismos diminui com passar do tempo. A curva com concavidade voltada para cima ($p < 1$) indica que a mortalidade da população de micro-organismos é maior no início e diminui após um certo tempo; $p = 1$ segue a cinética de primeira ordem, apresentando comportamento log-linear (ORTIZ, 2020). O fator de escala (δ) é um parâmetro que está relacionado à velocidade de inativação (PELEG, 2006).

Na literatura, vários estudos utilizaram o modelo de Weibull para representar curvas de inativação não lineares. Izquier e Gómez-López (2011) ao estudar a inativação por luz pulsada em vegetais, verificaram que o modelo de Weibull demonstrou um bom desempenho no ajuste aos dados experimentais. Esse modelo também foi utilizado por Possas et al., (2018), para descrever a inativação de *S. Enteritidis* por luz UV-C em leite de soja e mostrou-se eficiente. O modelo de Weibull também apresentou bom ajuste na pesquisa de Menezes et al. (2019) que estudaram o efeito da concentração de sólidos solúveis na inativação de *Neosartorya fischeri* em suco de maçã usando diferentes doses de luz UV-C. Também foi eficaz na predição da inativação de *Escherichia coli* 0157: H7 e *Salmonella* usando ozônio ou luz UV pulsada em morangos e framboesas (BIALKA et al., 2008). Ainda, Pretto et al, (2021) avaliaram a cinética

de inativação de bactérias patogênicas em queijo artesanal durante o armazenamento e revelaram que o modelo de Weibull descreveu bem os dados experimentais.

Dessa forma, o modelo de Weibull demonstrou eficácia em descrever o comportamento não linear de inativação, sendo uma boa alternativa para utilização no presente estudo.

3. MATERIAS E MÉTODOS

3.1 Microrganismos

Salmonella enterica Typhimurium (ATCC 14028) e *Salmonella enterica* Enteritidis (ATCC 13046) adquiridas na forma liofilizada da coleção de Culturas Tropicais da Fundação André Tosello (Campinas, Brasil) e *Salmonella enterica* Minnesota e *Salmonella enterica* Heidelberg isoladas de uma planta industrial foram reidratadas em caldo *Brain Heart Infusio* (BHI). Em seguida, as cepas bacterianas foram armazenadas em tubos de Eppendorf com caldo BHI suplementado com 30% (v/v) de glicerol e armazenadas a -24 °C, até a sua utilização.

3.2 Preparação do inóculo

Para a realização dos experimentos, o preparo dos inóculos foi realizado conforme descrito abaixo.

Alíquotas de 100 µL da suspensão bacteriana descongelada foram adicionadas em 10 mL de meio de crescimento *Brain Heart Infusion* (BHI, Kasvi, Brasil). Em seguida, para atingir cada fase de crescimento (de acordo com estudos anteriores), foram realizados três procedimentos de incubação diferentes: 14h (*S. Enteritidis*), 10h (*S. Typhimurium*) e 9h (*S. Minnesota* e *S. Heidelberg*) a 25 ° C para obter o inóculo da fase de crescimento exponencial ($\sim 10^8$ UFC/mL) (E25);

3.3 Análises microbiológicas

3.3.1 Cinética bacteriana experimental

O crescimento bacteriano de *S. Enteritidis*, *S. Minnesota*, *S. Heidelberg* e *S. Typhimurium* foi avaliado em atividade de água (a_w) 0,950. Para obter o valor proposto de a_w , uma concentração de 7% de cloreto de sódio (NaCl) foi adicionada em 300 mL de caldo BHI (de acordo com experimentos prévios). Os valores de a_w foram medidos com auxílio de um medidor de atividade de água Aqualab (Aqualab, modelo SERIES 3TE). Cada inóculo foi diluído até concentração de 10^7 UFC/mL. Em seguida, uma alíquota de 1 mL foi transferida

para o recipiente contendo 300 mL de meio BHI a 25 °C adicionados de 7% de cloreto de sódio, atingindo uma concentração bacteriana de 10^5 UFC/mL, as amostras foram então incubadas a 25°C por tempo determinado. As curvas de crescimento foram construídas e analisadas utilizando o método de contagem de placa. Em intervalos de tempo regulares, foram realizadas diluições em série em água peptona a 0,1%. Uma alíquota de 100 µL da diluição apropriada foi inoculada à superfície de ágar BHI. As placas foram incubadas durante 24h a 35 °C e as contagens foram expressas em UFC/mL.

A modelagem proposta por Paganini et al. (2021), foi utilizada para modelagem dos dados experimentais, e representação gráfica. A equação (6) foi ajustada aos dados experimentais (concentração de células bacterianas vs. tempo) com o método dos mínimos quadrados não linear (algoritmo de região de confiança, caixa de ferramentas de ajuste de curva, Matlab R2013a, MathWorks®, Natick, EUA).

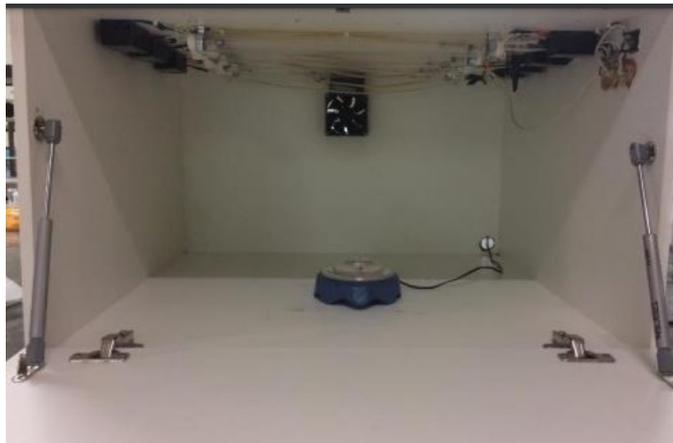
3.3.2 Cinética de inativação bacteriana ao longo do Fenômeno Fênix (após exposição ao estresse osmótico)

As amostras utilizadas foram preparadas de acordo com o item 3.3.1. A partir de resultados anteriores obtidos no grupo de pesquisa, dois *time-points* foram estabelecidos para aplicação do tratamento por radiação UV-C. O tempo zero horas (t_0), logo após a exposição ao estresse osmótico, onde a concentração bacteriana encontra-se em torno de 10^5 UFC/mL e o tempo 120h (t_{120}) (*S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Typhimurium*) e 96h (t_{96}) (*S. Minnesota*), quando as bactérias já haviam retomado o crescimento exponencial durante o Fenômeno Fênix, apresentando concentração bacteriana em torno de 10^5 UFC/mL. Esses tempos foram baseados em estudos prévios do grupo. Para cada sorotipo estudado, foi preparado uma amostra padrão (branco), no qual, 1 mL, das respectivas suspensões de inóculo, na concentração de 10^7 UFC/mL foi adicionado em 300 mL de caldo BHI a 25 °C. Atingindo uma concentração bacteriana de 10^5 UFC/mL.

O tratamento com UV-C foi realizado em uma câmara fabricada em MDF (75x70x45 cm) equipada com sete lâmpadas germicidas: quatro de 15 W (TUV 15 W/G15 T8, Philips, Holanda) e três de 32 W (DULUX HNS L24W, OSRAM, Alemanha) (apenas 2 lâmpadas de 15W foram utilizadas), com emissão em 254 nm. No *time-point* t_0 e para o controle individualmente, 30 mL das amostras foram colocadas em placas de Petri (profundidade de 4

mm) e expostas a uma fonte de radiação UV-C com intensidade de $6,5 \text{ W/m}^2$ para diferentes tempos de irradiação (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 min). Para os *time-points* t96, t20h, com o objetivo de manter a mesma transmitância do meio, 3 mL das amostras foram adicionados em 30 mL de meio BHI em placas de Petri (profundidade de 4 mm) e expostas a uma fonte de radiação UV-C com intensidade de $6,5 \text{ W/m}^2$ para diferentes tempos de irradiação (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 min). Para a condição descrita, foram utilizadas apenas 2 lâmpadas germicidas (15 W cada) e a amostra foi colocada a 33,3 cm de distância das lâmpadas (Figura 4). As amostras foram agitadas continuamente durante a irradiação de UV-C com agitador magnético (IKA, BIG SQUID White). A lâmpada UV foi ligada por cerca de 30 minutos antes dos tratamentos com UV-C para minimizar as flutuações de irradiância.

Figura 4 - Equipamento de radiação UV-C para a irradiância de $6,5 \text{ W/m}^2$.



Fonte: ORTIZ 2020

Nos tempos de exposição a luz UV-C descritos (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 min), foram realizadas diluições em série em água peptona a 0,1%. Uma alíquota de 100 μL da diluição apropriada foi inoculada à superfície de ágar BHI. As placas foram então incubadas a 35°C por 24h para a construção da curva de inativação. A concentração bacteriana foi expressa em UFC/mL.

Cada dose d (kJ/m^2) foi calculada em função do tempo t (min) e da irradiância I ($6,5 \text{ W/m}^2$), de acordo com a Equação (8) para os tempos pré-determinados (0, 2, 4, 6, 8, 10, e 12 min).

$$d = \frac{(60.t.I)}{1000} \quad (8)$$

O experimento descrito foi realizado em duplicata apenas para *S. Minnesota*, sendo necessário a realização da duplicata para os outros sorotipos para estudos posteriores.

O modelo de Weibull foi utilizado para modelagem dos dados experimentais. Os parâmetros de inativação do modelo foram determinados por meio do Matlab R2013a (MathWorks®, Natick, EUA). As curvas de inativação foram feitas no Office Excel 2010 (Microsoft®, Redmond, EUA). A partir dos parâmetros p e δ , foram calculadas as doses para duas reduções decimais (d_2) através desse mesmo modelo (Eq. (7)) a fim de comparar a resistência dos diferentes sorotipos tratados com Luz UV-C para a amostra controle, t_0 (logo após a exposição ao estresse osmótico) e t_{120}/t_{96} (durante o Fenômeno Fênix, após a retomada do crescimento exponencial).

Os índices estatísticos erro médio quadrático (RMSE) (Eq. (10)) e o coeficiente de determinação (R^2) (Eq. (9)) foram obtidos, para a avaliação do desempenho do modelo, a partir do ajuste da curva do Matlab através das equações 9 e 10, descritas abaixo:

$$R^2 = 1 - \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\text{valor predito} - \text{valor observado})^2}{\sum_{i=1}^n (\text{valor observado} - \text{média do valor predito})^2}} \quad (9)$$

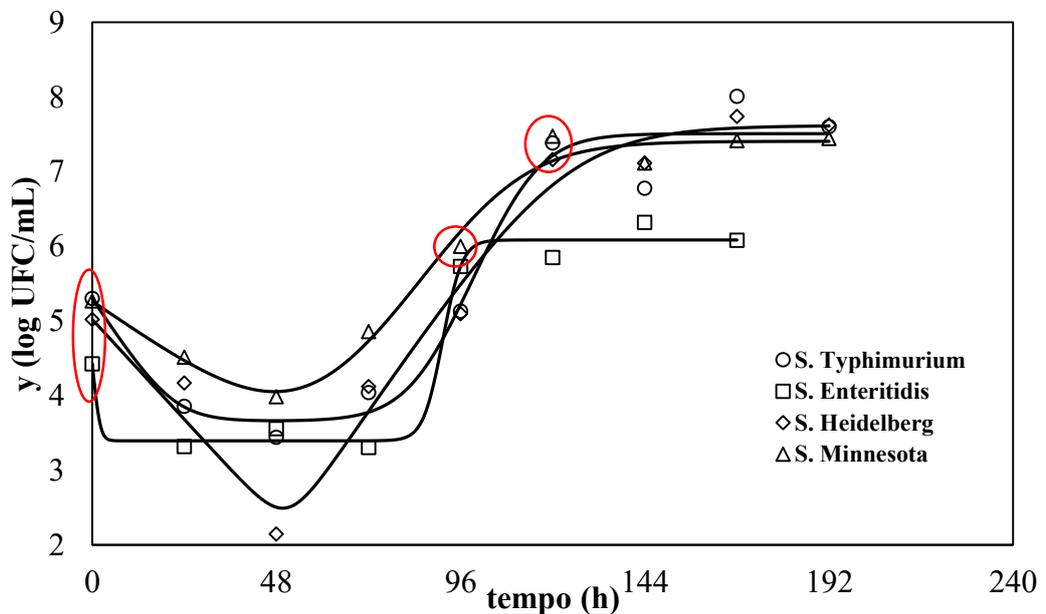
$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\text{valor predito} - \text{valor observado})^2}{n - \beta}} \quad (10)$$

Em que: n = número de observações experimentais β = número de parâmetros do modelo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 5 apresenta os dados do comportamento de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* cultivadas em meio BHI com a_w de 0,950, incubadas a 25 °C e o ajuste do modelo primário proposto por Paganini et al. 2021 (artigo submetido) (Eq. (6)) aos dados experimentais. Para todos os sorotipos testados, após a inoculação na condição de estresse osmótico, foi observada uma diminuição na concentração bacteriana, em seguida, a concentração bacteriana permaneceu constante. Após essa fase, um crescimento exponencial foi observado, até atingir a fase estacionária. Comportamento conhecido como Fenômeno Fênix (COLLEE; KNOWLDEN; HOBBS, 1961; SHOEMAKER; PIERSON, 1976).

Figura 5 - Dados experimentais (símbolos) de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Minnesota* e *S. Heidelberg*, incubados a 25 °C em caldo BHI ($a_w = 0,950$). As linhas contínuas representam o ajuste do modelo primário Paganini et al. 2021 (artigo submetido) (Eq. (6)) aos dados experimentais. Os círculos em vermelho indicam os *time-point* em que foram retiradas as amostras para determinação do efeito da irradiação UV-C ($t = 0$ para todos os sorotipos; $t = 96$ para *S. Minnesota*; $t = 120$ para *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Heidelberg*).



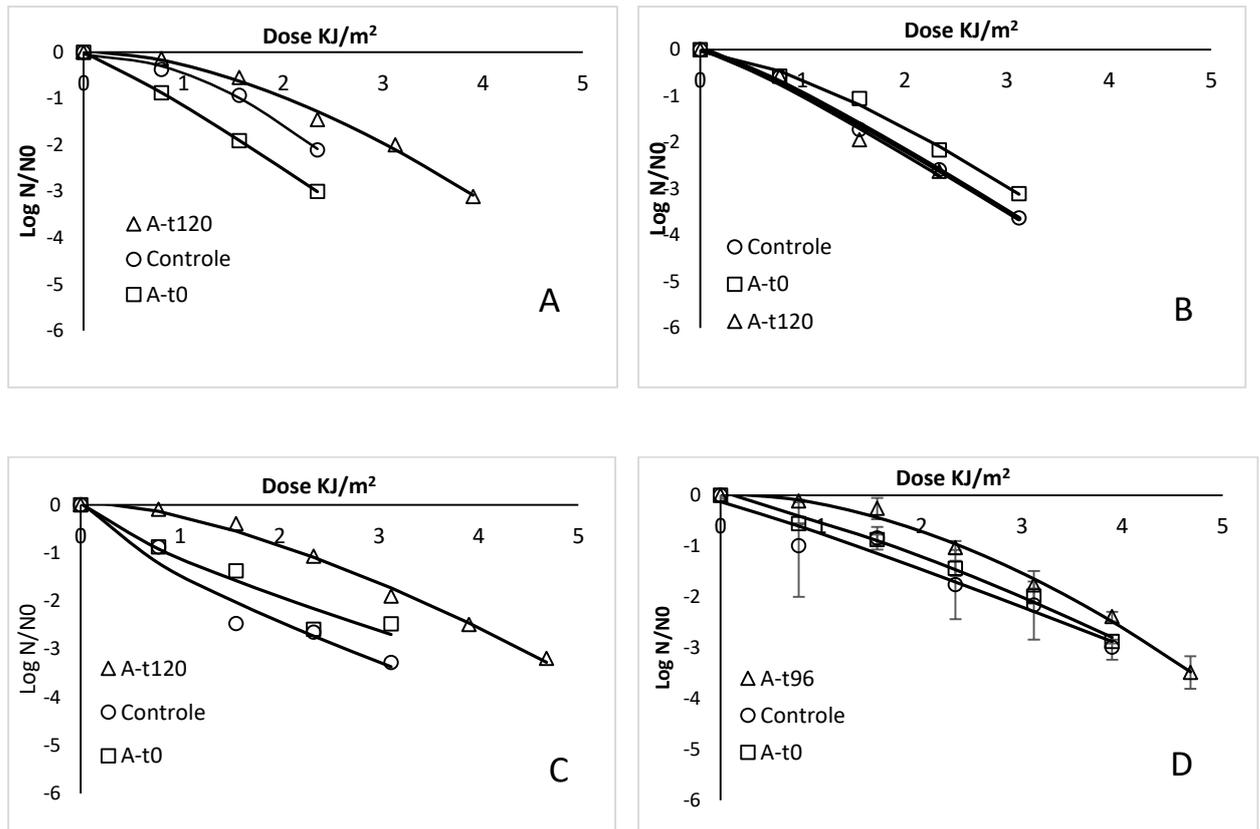
Fonte: do autor

É possível observar pela Figura 5 que os sorotipos estudados apresentaram diferenças em relação a sua adaptação ao ambiente osmótico estressante. Mesmo todos os sorotipos mostrando o comportamento denominado Fenômeno Fênix. Visualmente pode-se notar que

S. Heidelberg e *S. Minnesota*, mostraram mais rápida adaptação ao meio osmótico, com lag menor que *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*. A subpopulação inativando de *S. Enteritidis* e diminuiu mais rápido do que *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*. A sensibilidade da população inicial ao ambiente osmótico se mostrou maior para *S. Enteritidis* e *S. Heidelberg*. Entretanto, uma duplicata será realizada futuramente, para melhor compreensão dos dados experimentais de *S. Heidelberg*, especialmente próximo a 48h de incubação no meio osmótico.

A Figura 6 mostra os sorotipos de *S. enterica* tratados com luz UV-C em diferentes doses de irradiação: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m² durante o Fenômeno Fênix, nos *time-point* estudados, o controle (sem exposição ao estresse osmótico), t0 (logo após a exposição ao estresse osmótico) e t120/t96 (durante o Fenômeno Fênix, após a retomada do crescimento exponencial) e o ajuste do modelo de Weibull (Eq. (7)) aos dados experimentais obtidos. Os dados foram expressos em termos de $\log(N/N_0)$ para facilitar a comparação e evitar a influência das concentrações microbianas iniciais na comparação das resistências as doses aplicadas.

Figura 6 – Curva de sobrevivência de diferentes sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium* (A); *S. Enteritidis* (B), *S. Heidelberg* (C) e *S. Minnesota* (D)) tratados com luz UV-C utilizando diferentes doses de irradiação: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m², nos *time-point* estudados, o controle, t0 e t120/t96. As linhas contínuas representam o ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais.



Fonte: do autor

Como pode ser observado (Figura 6), todas as curvas de inativação mostraram comportamento não linear com concavidade para cima ou para baixo. Em relação à resistência dos sorotipos, a mesma tendência vista para a exposição ao estresse osmótico (Figura 5) seguiu para o tratamento de irradiação UV-C. Os resultados mostraram, visivelmente, que as linhagens isoladas industrialmente de *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* apresentaram melhor capacidade de adaptação e resistência à UV-C. Necessitando de doses maiores para atingir as mesmas reduções decimais, que os demais sorotipos testados. *S. Typhimurium* (A) apresentou, no máximo, UFC até a aplicação de uma dose de 3,9 KJ/m². *S. Enteritidis* (B) no máximo até uma dose de 3,12 KJ/m². *S. Heidelberg* (C) e *S. Minnesota* (D) apresentaram UFC ainda após a aplicação da última dose adotada (4,68 KJ/m² (*time-point* t96/t120)).

A Tabela 2 apresenta os parâmetros do modelo de Weibull e os índices estatísticos estimados pelo ajuste do modelo de Weibull aos dados experimentais de diferentes sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium*; *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*) tratados com luz UV-C, em diferentes doses de irradiação: 0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m², para o controle, t0 (logo após a exposição ao estresse osmótico) e t120/t96 (durante o Fenômeno Fênix, após a retomada do crescimento exponencial). A partir dos parâmetros, fator de forma (p) e fator de escala (δ), foram calculadas as doses para duas reduções decimais (d_2) por meio do modelo de Weibull (Eq.(7)) com o objetivo de comparar a resistência dos sorotipos tratados com luz UV-C para o controle, t0 (logo após a exposição ao estresse osmótico) e t120/t96 (durante o Fenômeno Fênix, após a retomada do crescimento exponencial). Esses valores também são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros do modelo (p e δ), doses para duas reduções decimais (d_2) e índices estatísticos (R^2 e $RMSE$) obtidos a partir do ajuste do modelo de inativação de Weibull aos dados experimentais de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* durante o Fenômeno Fênix.

Sorotipo	p	δ (KJ/m ²)	d_2 (KJ/m ²)	RMSE	R^2
<i>S. Typhimurium</i>-controle	1,90	1,61	2,32	0,1157	0,9947
<i>S. Typhimurium</i>-t0	1,13	0,88	1,63	0,0026	1,0000
<i>S. Typhimurium</i>-t120	1,69	1,99	3,00	0,1315	0,9929
<i>S. Enteritidis</i>-controle	1,16	1,02	1,85	0,1198	0,9967
<i>S. Enteritidis</i>-t0	1,42	1,41	2,30	0,1358	0,9941
<i>S. Enteritidis</i>-t120	1,12	0,95	1,75	0,3201	0,9766
<i>S. Heidelberg</i>-controle	0,72	0,57	1,48	0,4024	0,9564
<i>S. Heidelberg</i> -t0	0,77	0,85	2,09	0,3713	0,9425
<i>S. Heidelberg</i>-t120	1,51	2,10	3,32	0,1320	0,9926
<i>S. Minnesota</i>-controle	1,08	1,53	2,90	0,3089	0,9493
<i>S. Minnesota</i>-t0	1,32	1,84	3,10	0,1311	0,9904
<i>S. Minnesota</i>-t96	1,81	2,34	3,43	0,1315	0,9929

Fonte: do autor

O desempenho do modelo de Weibull na predição da sobrevivência de sorotipos de *S. enterica* tratada com luz UV-C foi avaliado a partir dos índices estatísticos R^2 (Eq. (9)) e $RMSE$ (Eq. (10)). Como observado na Tabela 2, o modelo de Weibull apresentou bom ajuste aos dados experimentais, com valores de R^2 próximos de 1 e $RMSE$ próximos de zero.

A partir dos parâmetros do modelo de Weibull mostrados na Tabela 2, constata-se que os sorotipos de *S. enterica* estudados, apresentaram diferenças entre si quanto à resistência à inativação UV-C nas doses aplicadas. Diferenças também foram observadas entre as amostras controles, t0 e t96/t120.

Os valores do fator de forma (p) variaram entre 0,72 e 1,9 para as condições estudadas. *S. Heidelberg* no *time-point* t0 e seu controle apresentaram valores de p menores que 1, confirmando que a curva possui concavidade voltada para cima, e que a mortalidade da

população de microrganismos é maior no início e diminui com o aumento da dose. A curva com concavidade voltada para baixo ($p > 1$), foi observada para todas as outras condições estudadas, mostrando que a população diminui gradualmente com o aumento da dose.

S. Heidelberg apresentou uma mudança na forma de inativação após passar pelo estresse osmótico durante o Fenômeno Fênix, tendo a concavidade da curva de sobrevivência modificada, apresentando $p > 1$ para condição t120. *S. Typhimurium*, *S. Minnesota* e *S. Enteritidis* não tiveram alterações no perfil de inativação ($p > 1$), porém apresentaram alterações no parâmetro p . Observa-se também através da Tabela 2, a variação do fator de escala (δ), para todas as condições estudadas, indicando que a velocidade de inativação foi modificada.

Como pode ser visto na Tabela 2 ocorreu a variação dos parâmetros p e δ , para as diferentes condições testadas. Por este motivo, a comparação da resistência entre os sorotipos ao tratamento com a luz UV-C foi realizada calculando as doses necessárias para redução de 2 logs decimais (d_2) nos *time-point* estudados.

A exposição ao ambiente osmótico, durante o Fenômeno Fenix (t120/96) levou a um aumento dos valores de d_2 para *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* em relação ao instante inicial (t_0) e o controle. Indicando que os sorotipos se tornaram mais resistentes ao tratamento UV-C, após a ocorrência do Fenômeno Fênix. *S. Enteritidis*, porém, apresentou menor diferença entre os valores de d_2 e não seguiu a mesma tendência dos outros sorotipos, apresentando menor d_2 após a ocorrência do Fenômeno Fênix.

S. Minnesota foi o sorotipo mais resistente à irradiação UV-C após a ocorrência do Fenômeno Fênix (t96), necessitando de uma dose de 3,43 KJ/m² para uma redução de 2 ciclo logarítmicos, seguido por *S. Heidelberg* (t120) com uma dose de 3,32 KJ/m² e *S. Typhimurium* (t120) com d_2 de 3,00 KJ/m². *S. Enteritidis* foi a menos resistente com d_2 de 1,75 KJ/m².

Em relação aos valores de d_2 obtidos para as amostras controle e para t_0 , todos os sorotipos, exceto *S. Typhimurium*, apresentaram d_2 maior para o t_0 . Indicando que, para esses sorotipos, um estresse instantâneo, já foi capaz de oferecer algum tipo de resistência à população sobrevivente. *S. Heidelberg* foi o sorotipo que apresentou maior variação no parâmetro d_2 , apresentando $d_2 = 1,48$ para amostra controle e $d_2 = 2,09$ para t_0 .

5. CONCLUSÃO

Todos os sorotipos de *S. enterica* (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*) expostas a condições de estresse osmótico levaram ao Fenômeno Fênix. Porém, foi observado que os sorotipos responderam de maneira diferente ao ambiente estressante. *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*, isolados de uma planta industrial, mostraram melhor adaptação e resistência ao meio osmótico, quando comparadas aos outros dois sorotipos. *S. Enteritidis* apresentou mais rápida diminuição da população inicial, demonstrando maior sensibilidade ao ambiente osmótico.

A exposição ao tratamento de luz UV-C nos sorotipos de *S. enterica*, durante o Fenômeno Fênix, nas doses aplicadas (0, 0,78, 1,56, 2,34, 3,12, 3,9 e 4,68 KJ/m²), levaram a variações do parâmetro fator de forma (p). *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Minnesota* apresentaram $p > 1$, para todas as *time-point*. Entretanto, *S. Heidelberg* mostrou mudança no fator de forma após a passagem pelo Fenômeno Fênix (t_{120} , retomada do crescimento exponencial), indicando que a passagem pelo Fenômeno Fênix, pode causar mudança no perfil de inativação de sorotipos de *S. enterica*. Os resultados mostraram que o fator de escala (δ) também apresentou variação para os sorotipos estudados em todos os *time-points*, indicando que ocorreu uma modificação na velocidade de inativação desses sorotipos.

Todos os sorotipos, exceto *S. Typhimurium*, apresentaram d_2 maior para t_0 em relação ao controle. Indicando que, para esses sorotipos, um estresse instantâneo foi o suficiente para levar ao aumento da resistência ao tratamento de luz UV-C. Após a retomada do crescimento exponencial (Fenômeno Fênix ($t_{120}/96$)) ocorreu o aumento dos valores de d_2 para *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Minnesota* em relação ao instante inicial (t_0) e ao controle. Portanto, a passagem pelo Fenômeno Fênix tornou esses sorotipos mais resistentes ao tratamento UV-C, sugerindo que aplicação de estresses sequenciais pode levar ao aumento da sua resistência. *S. Enteritidis* não seguiu a mesma tendência que os demais sorotipos estudados. Os sorotipos *S. Heidelberg* e *S. Minnesota*, isolados de uma planta industrial, foram os mais resistentes à irradiação UV-C após a ocorrência do Fenômeno Fênix. *S. Enteritidis* foi a menos resistente com menor valor de d_2 para t_{120} .

O modelo primário de Weibull foi capaz de prever as cinéticas de sobrevivência de sorotipos de *S. enterica* tratadas com luz UV-C, durante o fenômeno Fênix, apresentando bons índices estatísticos.

Com o objetivo de alcançar métodos eficientes para controle e inibição de microrganismos na indústria de alimentos, o estudo da resistência de bactérias patogênicas expostas a estresses sequenciais é de fundamental relevância. Os resultados obtidos neste estudo demonstram a necessidade da compreensão das respostas microbianas a ambientes estressantes, que podem ser encontrados na indústria de alimentos, contribuindo assim para a melhoria do processamento e segurança de alimentos.

REFERÊNCIAS

- A Report Produced for the International Federation for Animal Health: the Costs of Animal Disease.** Oxford Analytica, 2012. Disponível em: [10.1057/9780230358522_6](https://doi.org/10.1057/9780230358522_6)
- ABEE, T. **Microbial stress response in minimal processing.** International Journal of Food Microbiology, v. 50, n. 1-2, p. 65-91, 1999.
- AGUIRRE, A.; BORNEO, R.; LEON, A. E. **Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil.** Food Bioscience, v.1, n. August, p. 2-9, 2013.
- AGUIRRE, J.S.; KOUTSOUMANIS, K.P. **Towards lag phase of microbial populations at growth-limiting conditions: the role of the variability in the growth limits of individual cells.** Int. J. Food Microbiol., 224 (2016), pp. 1-6
- ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A. et al. **The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: Implications for food safety.** International Journal of Food Microbiology, v. 213, p 99-109, 2015.
- ANTUNES, P; MOURÃO, J; CAMPOS, J; PEIXE, L. **Salmonellosis: the role of poultry meat.** Clin. Microbiol. Infect., 22 (2016), pp. 110-121. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>>
- ASPINALL, W.P.; COOKE, R.M.; HAVELAAR, A.H.; HOFFMANN, S.; HALD, T. **Evaluation of a performance-based expert elicitation: WHO global attribution of foodborne diseases.** PLoS One, v.11, pe0149817, 2016.
- ASPRIDOU, Z.; AKRITIDOU, T.; KOUTSOUMANIS, K. P. **Simultaneous growth, survival and death: The trimodal behavior of *Salmonella* cells under osmotic stress giving rise to “Phoenix phenomenon”.** International Journal of Food Microbiology, v. 285, p. 103–109, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.012>
- BAATI, L; FABRE-GEA, C.; AURIOL, D. **Study of the cryotolerance of *Lactobacillus acidophilus*: effect of culture and freezing on the viability and cellular protein levels.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 241-247, sep. 2000.
- BACK, A.; ISHIZUKA, M. M. **Principais doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde Animal.** In: Salmonelose aviária. 1 ed. São Paulo: Fundação Cargill, p. 120 -189, 2010.
- BARANYI, J. et al. **Lag Phase of *Salmonella enterica* under Osmotic Stress Conditions .** Applied and Environmental Microbiology, v. 77, n. 5, p. 1758–1762, 2010.
- BARANYI, J., PIN, C., ROSS, T. **Validating and comparing predictive models.** Int. J. Food Microbiol, v. 48, p. 159–166, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00035-5)

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. **A dynamic approach to predicting bacterial-growth in food.** International Journal of Food Microbiology, v. 23, p. 277-294, 1994.

BASSANI, J. **Eficácia de sanitizantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Salmonella Heidelberg* isoladas de fontes avícolas em 2006 e 2016.** 66p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, 2017.

BASSAN, J.D.L.; FLÔRES, M.L.; ANTONIAZZI, T.; BIANCHI, E.; KUTTEL, J.; TRINDADE, M.M. **Controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarídeo.** Ciência Rural, v. 38, p. 1961-1965, 2008.

BERCHIERI JUNIOR, A. **Salmoneloses aviárias.** In: BERCHIERI JUNIOR, A., MACARI, M. (Eds.). Doenças das aves. Campinas: FACTA, 2000. p. 185-195.

BIALKA, K. L.; DEMIRCI, A.; PURI, V. M. **Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV- light.** Journal of Food Engineering, Unites States, v. 85, n. 3, p. 444-449, 2008

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANEATAKI, E.; ROBINSON, R. K. **Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry- a critical review.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 80, n. 6, 2000.

BOLTON, J. R.; LINDEN, K. G. **Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments.** Journal of Environmental Engineering, Canada, v. 129, n. 3, 2003.

BOOTH, I. R. **Stress and the single cell: Intrapopulation diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress.** International Journal of Food Microbiology v. 78, n.1-2, p. 19-30, 2002.

BRADEN, C. R. ***Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States.** Clinical Infectious Diseases, v. 43, p. 512–517, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*** / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília, Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. Brasília.** 2012. 171 p. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/395481/Relat%25C3%25B3rioPrebafvers%25C3%25A3ofinal-ar2012.pdf/f6bb5296-e633-4f7b-b81f-48a99430da6a>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação/Secretaria de Vigilância à Saúde Sinan/SVS. Doenças Transmitidas por**

Alimentos. Brasília. 2015. 11 p. Disponível em:
<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação/Secretaria de Vigilância à Saúde Sinan/SVS. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil.** Brasília. 2016. 19p. Disponível em:
<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/08/Apresenta----o-Surtos-DTA-2016.pdf>

BRASIL. **Ministério da Saúde. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Informe 2018.** Secretaria de Vigilância em Saúde. 2019. Disponível em:
<https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>

BROUGHALL J.M., BROWN C. **Hazard analysis applied to microbial growth in foods: development and application of three-dimensional models to predict bacterial growth.** Food Microbiol, v. 1, p. 13-22, 1984.

BUSTA, F. F. **Introduction to Injury and Repair of Microbial Cells.** Advances in Applied Microbiology, v.23, n. C, p. 195-201, 1978.

CABELLO, F.; HORMAECHE, C.; MASTROENI, P.; BONINA, L. (Eds.), **Biology of salmonella,** Plenum Publishing , New York .1993.

CAMARGO, A. M. **A hora da irradiação. Suinoculturaindustrial. 2001 (atualização em 2016).** Disponível em: <https://www.suinoculturaindustrial.com.br/imprensa/a-hora-da-irradiacao/20010204-190701-0231>

CAMINITI, I. M. et al. **The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice.** Food and Bioprocess Technology, Dublin, v. 5, p. 680-686, 2012.

CARDOSO, T. G.; CARVALHO, V. M. **Toxifecção alimentar por *Salmonella spp.*** Rev. Inst. Ciênc. Saúde. v. 24, n. 2. 2006. p. 95 – 101

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M. **Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review.** Food Research International 45, 545–556. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.004>

CARRILLO, M. G.; FERRARIO, M.; GUERRERO, S. **Study of the inactivation of some microorganisms in turbid carrot-orange juice blend processed by ultraviolet light assisted by mild heat treatment.** Journal of Food Engineering, Argentina, v. 212, p. 213-225, 2017.

CDC. Centers for Diseases Control and Prevention. **Multistate Outbreak *Salmonella* Typhimurium infection associatedy intake meat milled EUA, 2004.** Morbidity and Mortality Weekly Report, v. 55, p.180-182, 2006.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Associated salmonellosis in humans turtle United States. Morbidity and Mortality 2006-2007.** Weekly Report, v. 56, n. 26, p. 649-652, 2007.

CDC - PREVENTION. **Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): FoodNet Surveillance Report for 2012 (Final Report).** Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. 2014.

CDC – CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Multistate Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella* Heidelberg Infections Linked to Contact with Dairy Calves (Final Update).**2017.

CHAI, S. J.; WHITE, P.L., LATHROP, S.L.; SOLGHAN, S.M.; MEDUS, C.; MCGLINCHEY, B.M.; TOBIN-D'ANGELO, M.; MARCUS, R.; MAHON, B.E. ***Salmonella enterica* serotype Enteritidis: Increasing incidence of domestically acquired infections.** Clin. Infect. Dis., 54 (suppl 5) (2012), pp. S488-S497. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/cis231>

CHEIS D. **Desinfecção de água e efluentes com raios ultravioletas.** Revista TAE, 2013. <http://www.revistatae.com.br/6102-noticias>.

CHITTICK, P. et al. **Summary of National Reports of foodborn outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention.** Journal of Food Protection, v.69, n.5, p. 1150-1153, 2006.

CHUNG, H.J.; BANG, W.; DRAKE, M.A. **Stress response of *Escherichia coli*.** Compr Rev Food Sci Food Saf 5: 52–64. 2006.

CHUN, H.; KIM, J.; CHUNG, K.; WON, M.; SONG, K. B. **Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteric* serovar Thyphimurium, and *Campylobacter jejuni* in ready-to-eat sliced ham using UV-C radiation.** Meat Science, 83, 599-603, 2009.

CODA-CERVA (Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie, Centre d'Etude et des Recherches Vétérinaires et Agrochimiques). ***Salmonella* Serotypes Analyzed at the CODA-CERVA in 2013.**Federal Public Service Health, Food Chain Security and Environment, Brussels, Belgium, 2014.

COLLA, F.L. et al. **Isolamento de *Salmonella* Heidelberg em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte.** Arquivos do Instituto Biológico. v. 79, n. 4, 2012.

COLLEE, J. G.; KNOWLDEN, J. A.; HOBBS, B. C. **Studies on the Growth, Sporulation and Carriage of *Clostridium Welchii* With Special Reference To Food Poisoning Strains.** Journal of Applied Bacteriology, v. 24, n. 3, p. 326–339, 1961.

COSTA, C. P.; FERREIRA, M. C. **Preservação de microrganismos: revisão.** Revista de Microbiologia, São Paulo, v.22, n. 3, p. 263-268, 1991.

CSONKA, L.N. **Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress.** Microbiol Rev 53: 121–147. 1989.

CURRIE, A. et al. **Salmonella Heidelberg no Canadá. Inocuidade em alimento. 2008.** Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/read/28694004/salmonella-heidelberg-no-canada-inocuidade-de-alimentos>

D'AOUST, J.; MAURER, J. **Salmonella Species.** Em Doyle M, Beuchat L (ed). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition* . ASM Press, Washington, DC, p. 187-236, 2007. Disponível em: doi: 10.1128 / 9781555815912.ch10

D' AOUST, J; MAURER, J; BAILEY, J, S. **Salmonella species.** M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montiville (Eds.), Food microbiology: Fundamentals and frontiers (2 edn), ASM Press, Washington, D.C. 2001, pp. 141-178

DEVLIEGHIERE F., DEBEVERE J., VAN IMPE J. **Effect of dissolved carbon dioxide and temperature on the growth of *Lactobacillus sake* in modified atmospheres.** International Journal of Food Microbiology, v. 41, p. 231-238, 1998.

DEMEZUK, W.; SOULE, G.; CLARK, C. **Phage-based typing scheme for *Salmonella enteric* Serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada.** Journal of Clinical Microbiology, v.41, n.9, p.4279-4284, 2003.

DICKEL, E.L. **Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de *Salmonella* em carcaças de frango para o controle higiênico sanitário do processo de abate.** 137 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

DUTRA, R. A. F.; FILHO, J. L. L. **Samonella spp., importante agente patógeno veiculado em alimentos.** Revista Ciências & Saúde Coletiva, v. 13, n. 5, p. 1675-1683. 2008.

EFSA. **Trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008.** EFSA Journal, v. 8, n. 1, p. 1–368, 2010b.

EFSA. **The European union one health 2018 zoonoses report.** Journal. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>

EFSA. **European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control.** v. 17, n. 1, 2019.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Center for Food Safety and Applied Nutrition. Patulin in apple juice, apple juice concentrates and apple juice products.** U.S. Food and Drug Administration. December, 2004. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/patubck2.html>.

FINN, S.; CONDELL, O.; MCCLURE, P.; AMÉZQUITA, A.; FANNING, S. **Mechanisms of survival, responses and sources of *Salmonella* in low-moisture environments.** *Front. Microbiol.* 4. 2013. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00331>

FOLSTER, J.P. et al. **Characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolated from food animals, retail meat, and humans in the United States.** *Foodborne Pathog. and Dis.*, V. 9 (2012), pp. 638-645, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1130>

FORSYTHE S.J. **Microbiologia da segurança alimentar.** Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed; 2002.

FOSTER, J. W.; SPECTOR, M. P. **How *Salmonella* Survive Against the Odds.** *Annual Review of Microbiology*, v. 49, n.1, p. 145-174, 1995.

FREITAS, J. **Evolução de sorovares Modelo de banco de cepas.** In: Seminário internacional de salmoneloses aviárias, 2011, Rio de Janeiro, RJ. Anais... Campinas: UBABEF, 2011.

GALANIS, E., LO FO WONG, D. M., PATRICK, M. E., BINSZTEIN, N., CIESLIK, A., CHALERMCHAIKIT, T., AIDARA-KANE, A., ELLIS, A., ANGULO, F. J., WEGENER, H. C. **Web-based Surveillance and Global *Salmonella* Distribution, 2000- 2002.** For World Health Organization Global Salm-Surv. *Emerging Infectious Diseases*, n. 12, v. 3, p. 381-388, 2006.

GAST, R. K. ***Salmonella* Infections. Paratyphoid Infections.** In: SAIF, Y. M. (Ed.) *Disease of Poultry*. 12 ed. Iowa. Blackwell Publishing, p. 636-635, 2008.

GEERAERD, A.H.; VALDRAMIDIS, V.P.; VAN IMPE, J.F. **GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves.** *Int. J. Food Microbiol.* 102, 95–105, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.038>

GELLI, S. D. **Surtos humanos por *Salmonella* em alimentos. Aves e Ovos.** São Paulo, SP. 1995.

GIANNUZZI L., PINOTTI A., ZARITZKY N. **Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 39, p. 101-110, 1998.

GIESE, N.; DARBY, J. **Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems.** *USA*, v. 34, n. 16, p. 4007-4013, 2000.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, P.; DEVLIEGHERE, F. **Pulsed light for food decontamination: a review.** *Trends in Food Science & Technology*, v. 18, n. 9, p. 464-473, 2007.

- GOSPAVIC, R. et al. **Mathematical modelling for predicting the growth of *Pseudomonas spp.* in poultry under variable temperature conditions.** Int J Food Microbiol. v. 127, p. 290– 297, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.022>
- GOUVÊA, R.; SANTOS, F. F.; NASCIMENTO, E. R.; FRANCO, R. M.; PEREIRA, V. L. A. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico do Saber, Isolamento Bacteriológico e PCR na Detecção de *Salmonella spp.* em Peito de Frango de Estabelecimento Varejista.** Goiânia, v.8, n.15. p. 1129 – 1135.2012.
- GOUVÊA, M. M. et al. **Aplicação da radiação ultravioleta como forma de contribuição para a química verde e construção de um reator fotoquímico alternativo e de baixo custo, para pré-tratamento de amostras.** Química Nova, Niterói – RJ, v. 37, n. 2, p. 337-343, set. 2014.
- GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. **Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella.** 9ed: Institut Pasteur, Paris. 2007.
- GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Advantages and limitations on processing foods by UV light.** Food science and technology international, v. 10, n. 3, p. 137-148, 2004.
- GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEÜHL, J.; GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. **Supplement 2003 - 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann -Le Minor scheme.** Research in Microbiology, v. 161, p. 26-29, 2010.
- GUNASEKERA, T.S.; CSONKA, L.N.; PALIY, O. **Genome-wide transcriptional responses of *Escherichia coli* K-12 to continuous osmotic and heat stresses.** J Bacteriol 190: 3712–3720. 2008.
- HEREDIA, N; GARCÍA, S. **Animals as sources of food-borne pathogens: a review.** Anim. Nutr., 4 (2018), pp. 250-255, 10.1016/J.ANINU.2018.04.006
- HESS, I. M.; NEVILLE, L. M.; MCCARTHY, R.; SHADBOLT, C. T.; MCANULTY, J. M. ***Salmonella* Typhimurium 197 outbreak associated with consumption of lambs liver in Sydney, NSW.** 136 Epidemiology and Infection, p. 461-467, 2008.
- HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. **Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v.17, n.2, p. 55-62, 1997.
- HUANG, L. IPMP 2013 – **A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology.** Int. J. Food Microbiol, v. 171, p. 100-107,2014.
- IRINO, K. FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A.T.; NEVES, B. C.; DIAS, A. M. G. **Progression of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 strains in São Paulo State, Brazil.** Revista Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 38, p. 193-196, 1996.

IZQUIER, A.; GÓMEZ-LÓPEZ, V. M. **Modeling the pulsed light inactivation of microorganisms naturally occurring on vegetable substrates.** Food Microbiology, Caracas, v. 28, n. 6, p. 1170-1174, 2011.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology.** 7 th ed. New York, USA: Science+Business Media. Inc, 2005.

KAKU, M.; PERESI, J. T. M.; TAVECHIO, A. T. **Surto alimentar por *Salmonella* Enteritidis no Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.** Rev. Saúde Pública (S. Paulo), v. 29, p. 127-131, 1995.

KELLY, A. F. et al. **Description of a “Phoenix” Phenomenon in the Growth of *Campylobacter jejuni* at temperatures close to the Minimum for growth.** Applied and Environmental Microbiology, v. 69, n.8, p. 4975-4978,2003.

KENYON, W. J.; SPECTOR, M. P. **Response of *Salmonella enterica* serovars to environmental stresses.** Hin-chung Wong (Ed.), Stress responses in foodborne microorganisms, Nova Science Publishing, Inc., Hauppauge, NY .2011.

KEYSER, M.; MÜLLER, I. A.; CILLIERS, F. P.; NEL, W.; GOUWS, P. A. **Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice.** Innovative Food Science & Emerging Technologies, South Africa, v. 9, n. 3, p. 348-354, 2008. 10.1016/j.ifset.2007.09.002

KIM, T.; SILVA, J. L.; CHEN, T. C. **Effects of UV irradiation on selected pathogens in peptone water and on stainless steel and chicken meat.** Journal of Food Protection, v. 65, n. 7, p. 1142-1145, 2002.

KING, T. et al. **Global genome response of *Escherichia coli* O157: H7 Sakai during dynamic changes in growth kinetics induced by an abrupt temperature downshift.** PLoS ONE, V.9, n. 6, 2014.

KOUTCHMA, T. N. **Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods.** Food and Bioprocess Technology, Canada, v. 2, p. 138–155, 2009.

KOUTCHMA, T. N.; FORNEY, L. J.; MARARU, C. I. **Ultraviolet light in food technology: principles and applications.** CRC Press Taylor & Francis Group, London/New York, 2009.

KOUTSOUMANIS, K. **A study on the variability in the growth limits of individual cells and its effect on the behavior of microbial populations.** Int. J. Food Microbiol., 128 (2008), pp. 116-121

KOUTSOUMANIS K.P.; ASPRIDOU, Z. **Moving towards a risk-based food safety management.** Curr. Opin. Food Sci., v. 12, p. 36-41, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.06.008>

KOUTSOUMANIS K.P.; LIANOU, A.; GOUGOULI, M. **Last developments in foodborne pathogens modeling.** Curr. Opin. Food Sci., v. 8, p. 89-98, 2016. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.04.006>

LAGUNAS-SOLAR, M. C.; PINA, C.; MACDONALD, J. D.; BOLKAN, L. **Development of Pulsed UV Light Processes for Surface Fungal Disinfection of Fresh Fruits**. Journal of Food Protection, Vol 69, No 2, 2006, 376-384p.

LAKE, R.J.; DEVLEESSCHAUWER, B.; NASINYAMA, G.; HAVELAAR, A.H. et al. **National studies as a component of the World Health Organization initiative to estimate the global and regional burden of foodborne disease**. PLoS One, v.10, pe0140319, 2015. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4668835/>)

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7ed. Porto Alegre. Artmed. 2005. p. 133 – 136.

LILTVED H, LANDFALD B. **Effects of high intensity light on ultraviolet-irradiated and non-irradiated fish pathogenic bacteria**. Water Research 34(2): 481–486, 2000.

LIU, C; HUANG, Y; CHEN, H. **Inactivation of *Escherichia Coli* O157:H7 and *Salmonella Enterica* on Blueberries in Water Using Ultraviolet Light**. J Food Sci. Julho de 2015; 80 (7): M1532-7. Doi: 10.1111 / 1750-3841.12910.

MACHADO, J.B. **A intoxicação por Salmonelas: multidroga resistente surto**. Dicas de Saúde. 2018. Disponível em: <https://t-bone.org.br/2018/11/a-intoxicacao-porsalmonelas-multidroga-resistente-surto/>

MACKEY, B. M.; DERRICK, C. M. **The effect of sublethal injury by heating freezing, drying and gamma-radiation on the duration of the lag phase of *Salmonella* Typhimurium**. Journal of Applied Bacteriology, v. 53, n.2, p. 243-251,1982.

MAJOWICZ, S. E.; MUSTO, J.; SCALLAN, E.; ANGULO, F. J.; KIRK, M.; O'BRIEN, S. J.; JONES, T. F.; FAZIL, A.; HOEKSTRA, R. M.; **for the International Colaboration on Enteric Disease “Burden of Illness” Studies. The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis**. Food Safety, v. 50, n. 6, p. 882-889. 2010.

MALDONADO, A. G. **Ocorrência de *Salmonella spp* em amostras de carcaças e miúdos de frango obtidos em uma feira e um mercado municipal na zona oeste da cidade de São Paulo: Análise crítica entre a técnica convencional em meios de cultivo e reação em cadeia pela polimerase – PCR**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

McDONALD, K.; SUN, D. W. **Predictive food microbiology for the meat industry (a review)**. International Journal of Food Microbiology, v. 52, n. 1-2, p. 1-27, 1999. Disponível em: http://smas.chemeng.ntua.gr/miram/files/publ_239_10_2_2005.pdf.

MEDEIROS, M.A.; OLIVEIRA, D.C.; RODRIGUES D, P.; FREITAS, D.R. **Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities**. Revista Panamena de Salud Publica, v. 30, n. 6, p. 555-560, 2011.

- MELLEFONT, L. A.; MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. **The effect of abrupt osmotic shifts on the lag phase duration of foodborne bacteria.** International Journal of Food Microbiology, v. 83, n. 3, p.281-293, 2003.
- MELLEFONT, L. A.; MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. **The effect of abrupt osmotic shifts on the lag phase duration of physiologically distinct populations of *Salmonella* Typhimurium.** International Journal of Food Microbiology, v.92, p.111-120, 2004.
- MELLEFONT, L. A.; MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. **Viable count estimates of lag time responses for *Salmonella typhimurium* M48 subjected to abrupt osmotic shifts.** International Journal of Food Microbiology, v. 105, p. 399–410, ago. 2005. Disponível em: doi: 10.1016 / j.ijfoodmicro.2005.03.018
- MELO, A. N. F. **Efeito da exposição subsequente a estresses abióticos na termotolerância e sobrevivência em condições gastrointestinais simuladas de *Salmonella* Enteritidis PT4 e *Salmonella* Typhimurium PT4.** Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9425/2/arquivototal.pdf>
- MENDONÇA, E. P. **Disseminação de *Salmonella* spp. na cadeia produtiva do frango de corte.** 70f. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil.** Tese de Doutorado - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. 131f. 2016.
- MENECELLI, F. B. **Equipamento de desinfecção de ovos “caipiras” utilizando radiação ultravioleta.** Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, da Universidade Brasil. 2017.
- MENEZES N.M.C. et al. **Modeling the effect of oregano essential oil on shelf-life extension of vacuum-packed cooked sliced ham.** Meat Science, v.139, p. 113-119, 2018.
- MENEZES, N. M. C.; TREMARIN, A.; FURIGO, A. J.; ARAGRÃO, G. M. F. **Effect of soluble solids concentration on *Neosartorya fischeri* inactivation using UV-C light.** International Journal of Food Microbiology. Florianópolis, v. 296, p. 43-47, 2019.
- MENEZES, N. M. C.; LONGHI, D. A.; ORTIZ, B. O.; FURIGO, A. J.; ARAGRÃO, G. M. F. **Modeling the inactivation of *Aspergillus fischeri* and *Paecilomyces niveus* ascospores in apple juice by different ultraviolet light irradiances.** International Journal of Food Microbiology, Florianópolis, Brazil, v. 333, 2020.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Salmonella (salmonelose): o que é, causas, tratamento, diagnóstico e prevenção.** Brasília, 2013. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br>

MONTALLI, V. **Qual é a efetividade da UV para biossegurança na Odontologia?**

Revista ImplantNews. V. 4. N 6. Out. 2020. Disponível em:

<https://revistaimplantnews.com.br/qual-e-a-efetividade-da-uv-para-biosseguranca-na-odontologia/>

MONTVILLE, T.J. **Principles which influence microbial growth, survival, and death in foods.** Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. Doyle, M. P.; Beuchat, L. R.; Montville, T. J. (eds), ASM Presse, Washington D.C. p. 13-29, 1997.

MOTA, C. C. S.; VIEIRA, H. R. A.; PUZINA, I. P.; KALACHE, J.; KONOLSAISEN, J. F.; CAMARGO, N. J. **Toxi-infecção alimentar por *Salmonella* Enteritidis: relato de um surto ocorrido em Curitiba-PR, Brasil/julho de 1981.** Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 2, n.3, p.123-131, 1983.

MUÑOZ-CUEVAS, M.; METRIS, A.; BARANYI, J. **Predictive modelling of *Salmonella* : From cell cycle measurements to e-models.** Food Research International., v. 45, n. 2, p. 852–862, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.033>

MUTZ, Y. DA S.; ROSARIO, D.K.A.; PASCHOALIN, V.M.F.; CONTE-JUNIOR, C.A. ***Salmonella enterica*: A hidden risk for dry-cured meat consumption?** Critical Reviews in Food Science and Nutrition 0, 1–15. 2019. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1555132>

NASCIMENTO, V.P. et al. **Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frango.** CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 19., 1997, Rio de Janeiro, RJ. Anais...Rio de Janeiro: 1997. p.287-287.

NASCIMENTO, V. P. D.; SANTOS, L. R. D. ***Salmonella* Enteritidis: Controle, implicações em saúde pública e na qualidade dos produtos de origem avícola.** VI SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. Chapecó: Embrapa Suínos e Aves. 2005. 124 p

NOVIYANTI, F. et al. **Predictive Modeling for the Growth of *Salmonella* Enteritidis.** v. 15, n. 7, p. 1–7, 2018.

NYCHAS, G.; SKANDAMIS, P.; BARKER, G. **Modelling *Salmonella* concentration throughout the pork supply chain by considering growth and survival in fluctuating conditions of temperature, pH and aw.** International Journal of Food Microbiology, v. 145, p. S96–S102, 2011.

O'BYRNE, C.P.; BOOTH, I.R. **Osmoregulation and its importance to foodborne microorganisms.** Int J Food Microbiol 74: 203–216. 2002.

OLIVER, J.D. **Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria.** FEMS Microbiology Reviews 34, 415–425. 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>

ORTIZ, B. O. **Modelagem de inativação *paecilomyces niveus* em diferentes irradiâncias de luz ultravioleta (UV-C) em suco de maçã clarificado.** Trabalho Conclusão do Curso de

Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. 2020.

PAGANINI, et. al. **Modeling the Phoenix Phenomenon of *Salmonella enterica* under Osmotic Stress Considering Inoculum Phase and Serotype**. Food Microbiology. 2021.

PAULA, A.M.R. **Detecção de *Salmonella* em Alimentos Crus de Origem Animal Empregando os Imunoensaios Rápidos TECRA™ *Salmonella* VIA, TECRA™ *Salmonella* UNIQUE e o método convencional de cultura**. São Paulo, 2002, 49 p. Dissertação para obtenção de grau de mestre. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2002.

PELEG M. **Modelling microbial populations with the original and modified versions of the continuous and discrete logistic equations**. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., v. 37, p. 471-490, 1997.

PICKLER, L.; HAYASHI, R.M.; LOURENÇO, M.C.; MIGLINO, L.B.; CARON, L.F.; BEIRÃO, B.C.B.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E. **Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 32, p. 27-36, 2012.

PICKLER, L. et al. **Resposta imunológica e uso de ácidos orgânicos em frangos desafiados com *Salmonella* Minnesota**. Acta Scientiae Veterinariae, v. 4, p.1203, 2014.

PIRT, S.J. **Principles of Microbe and cell Cultivation**. Universidade de Michigan. Wiley, 1975.

PODOLAK, R.; ENACHE, E.; STONE, W.; BLACK, D. G.; ELLIOTT, P. H. **Sources and Risk Factors for Contamination, Survival, Persistence, and Heat Resistance of *Salmonella* in Low-Moisture Foods**. Journal of Food Protection 73, 1919–1936. 2010. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.10.1919>

POSSAS, A.; VALERO, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F.; SOUZA, P. M. **Influence of temperature on the inactivation kinetics of *Salmonella* Enteritidis by the application of UV-C technology in soymilk**. Food Control. Espanha, v. 94, p. 132-139, 2018.

PRETTO, A. N.; RECK, C.; MENIN, A.; SANT'ANNA, V. **Modelagem cinética de inativação de bactérias patogênicas em queijo artesanal serrano durante a maturação**. Braz. J. Food Technol. [online]. 2021, vol.24, e2019322. Epub Apr 26, 2021. ISSN 1981-6723. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.32219>.

RANDO, O.J.; VERSTREPEN, K.J. **Timescales of Genetic and Epigenetic Inheritance**. Cell, v. 128, n.4, p. 655-668, 2007

RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). ***Salmonella enterica* ser. Minnesota (presença/25g) em peitos de frango salgados congelados do Brasil através dos Países**

Baixos, 2017.

RAVAGNANI, L.K.; AGOSTINIS, R.O.; OTUTUMI, L.K.; LIMA, E.T.; FERNANDE J.I.M.; MARTINS L.A. **Pesquisa de *Salmonella* spp. em frangos de corte criados em galpões climatizados de uma integração na região Oeste do Paraná.** Semina, Ciênc. Agrárias, v. 33, n. 6, p. 2327-2336, 2012.

REGAN, E. O. et al. **Development of a real-time multiplex PCR assay for the detection of multiple *Salmonella* serotypes in chicken samples.** v. 11, p. 1–11, 2008.

REZENDE, C.S. et al. **Sorovares de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos.** Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v.100, p.199-203, 2005.

RHODES M. W.; KATOR, H. **Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in Estuarine Environmentst.** Applied and Environmental Microbiology, v. 54, n. 12, p. 2902-2907, 1988.

RODRIGUES, D.P. **Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp.: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos.** Memoria Del Seminario Internacional Sobre Salmonelose Aviar, p.1-7, 2011, Rio de Janeiro.

RYCHLIK, I.; BARROW, P. A. ***Salmonella* stress management and its relevance to behaviour during intestinal colonisation and infection.** FEMS Microbiology Reviews, 29 (2005), pp. 1021-1040. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.03.005>

SANTHIRASEGARAM,V.; RAZALI, Z.; GEORGE, D.S.; SOMASUNDRAM, C. **Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (*Mangifera indica*) juice.** Food Bioprod. Process., 94 (2015), pp. 313-321, 10.1016/j.fbp.2014.03.011

SANDY, N. ***Salmonella* Tifi vs. Não tifi.** Nova pediatria. 2019. Disponível em: <https://novapediatria.com.br/salmonella-tifi-vs-nao-tifi/>

SCALLAN E., et al. **Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens.** Emerg Infect Dis. 2011;17(1):7-15. <https://dx.doi.org/10.3201/eid1701.p11101>

SCHAFFNER D.W., LABUZA T.P. **Predictive microbiology: where are we and where are we going?** Food Technol, v. 51, p. 95-99, 1997.

SCIENTIFIC report of EFSA and ECDC: **the European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012.** EFSA J., v.12, p.3547, 2014.

SEVCAN, U.; MEHMTE, R. A.; HANDAN, A. B.; CANAM T. **Use of UV-C radiation as a non-thermal process for liquid egg products(LEP).** Journal of Food Engineering 85 (2008) 561-568.

SEVERO D. S. **Modelagem do crescimento de *Ieuconostoc mesenteroides* em cultura pura e mista usando PCR quantitativo (qPCR)**. Universidade Federal de Santa Catarina. p. 1-106, 2018

SHAMA, G. **Ultraviolet light**. Encyclopedia of Food Microbiology, 2003

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; Dutra, R. A. F.; Lima J. L. F. ***Salmonella spp.*, importante agente patogênico transmitido por alimentos**. Ciênc. saúde coletiva [online]. V .13, n.5, p.1675-1683. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232008000500031> .

SHOEMAKER, S. P.; PIERSON, M. D. " **Phoenix Phenomenon** " in the Growth of ***Clostridium perfringens***. American Society for Microbiology Journals. v. 32, n. 6, p. 803–807, 1976. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/32/6/803/article-info>.

SILVA, E. G. **Estudo dos aspectos microbiológico de alimentos desidratados**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Salmonella**. In: **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. cap.19, p.253-285.

SIRSAT, S.A. et al. **Effect of sublethal heat stress on *Salmonella* Typhimurium virulence**. Journal of Applied Microbiology. v. 110, n.3, p. 813-822, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04941.x>

SLEATOR, R.D.; WOUTERS, J.; GAHAN, C. G. M.; ABEE, T.; HILL, C. **Analysis of the Role of OpuC, an Osmolyte Transport System, in Salt Tolerance and Virulence Potential of *Listeria monocytogenes***. 2001. Disponível em: DOI: 10.1128/AEM.67.6.2692-2698.2001.

SLONGO A.P., ROSENTHAL A., CAMARGO L.M.Q., DELIZA R., MATHIASS.P., ARAGÃO G.M. **Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure, LWT**. Food Science and Technology. v. 42, p. 303-306, 2009.

SOUZA, V.; KOUTCHMA, T. **Ultraviolet light microbial inactivation in liquid foods**. Innovative Food Processing Technologies, Canada, p. 146-170, 2020.

SPECTOR, M. P.; KENYON, W. J. **Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses**. Food Research International, v. 45, n.2, p. 455-481, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.056>

STERZO, E.V.; PAIVA, J.B.; MESQUITA, A.L.; FREITAS NETO, O.C. A. **Organic acids and/or compound with defined microorganisms to control *Salmonella enterica* serovar Enteritidis experimental infection in chickens**. Revista Brasileira de Ciência Avícola, v. 9, p. 69-73, 2007.

STOCKER, B.A.D.; MAKELA, P.H. **Genetic determinance of bacterial virulence with special reference to *Salmonella***. Microbiology and Immunology, 124 (1986), pp. 149-172. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-70986-9_9

Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde; **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis; Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis**. 2018. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>

TAUNAY, A. E.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T. et al. **The role of Public Health Laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brasil**. Revista Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 38, p. 119-127, 1996.

THOMPSON-COLLINS, D.; HURST, A.; KRUSE, H. **Synthesis of enterotoxin B by *Staphylococcus aureus* strain S6 after recovery from heat injury**. Canadian Journal of Microbiology, v. 19, n.1, p.1-6, 1973.

TIGANITAS, A. et al. **Study of the effect of lethal and sublethal Phd and a stresses on the inactivation or growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium***. International Journal of Food Microbiology, v. 134, n. 1-2, p. 104-112,2009.

UNLUTURK, S.; ATILGAN, M. R. **UV-C irradiation of freshly squeezed grape juice and modeling inactivation kinetics**. Journal of Food Process Engineering, Turkey, v. 37, n. 4, 2014.

VIEIRA, V. R.; NASCIMENTO, V. P.; BORSOI, A.; SANTOS, L. R. **Efeito do congelamento na contagem de *Salmonella* Enteritidis pelo método do número mais provável (NMP) em cecos de frangos de corte**. Revista da FZVA, Uruguaiana, v. 14, n. 2, p. 140-147. 2007.

VOSS-RECH, D.; VAZ, C. S. L.; ALVES, L.; COLDEBELLA, A.; LEÃO, J. Á.; RODRIGUES, D. P.; BACK, A. **A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil**. Journal of Poultry Science, v. 94, n. 3, p. 433-441, 2015. doi:10.3382/ps/peu081.

WALLNER-PENDLETON, E.; SUMNER, S.; FRONING, G. W.; STETSON, L. E. **The use of ultraviolet radiation to reduce *Salmonella* and psychrotrophic bacterial contamination on poultry carcasses**. Poultry Science, v. 73, n. 8, p. 1327-1333, 1994.

WEBER, A.; KOGL, S.A.; JUNG, K. **Time-dependent proteome alterations under osmotic stress during aerobic and anaerobic growth in *Escherichia coli***. J Bacteriol 188: 7165–7175. 2006.

WHITING R.C., BUCHANAN R.L. **A classification of models for predictive microbiology**. Food Microbiol., v. 10, p. 175-177, 1993.

- WHITING R.C., BUCHANAN R.L. **Microbial modelling**. Food Technol, v. 48, p. 113-120, 1994.
- WHO. **World Health Organization. Salmonella epidemiology**, 2008. Disponível em: <http://www.safe-poultry.com/salmonellaepidemiology.asp>
- WINFIELD, M. D.; GROISMAN, E. A. **Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of**. Am Soc Microbiol, v. 69, n.7, p. 3687-3694, 2003.
- WONG, E.; LINTON, R. H.; GERRARD, D. E.; **Reduction of *E. coli* and *Salmonella* senftenberg on pork sink and pork muscle using ultraviolet light**. Food Microbiol., v. 15, p. 415-423, 1998.
- YADAV, A. S.; SAXENA, V.K.; KATARIA, J. M. **Study on heat stress response in *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis and its impact on their attachment to dressed broiler skin surface**. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 11: 114-121. 2016. Disponível em: <https://www.scialert.net/abstract/?doi=ajava.2016.114.121>
- YAUN, B. R.; SUMNER, S. S.; EIFERT, J. D.; MARCY, J. E. **Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy**. International Journal of Food Microbiology, 90, 1, 1–8, 2004.
- YOUSEF, A.E.; COURTNEY, P.D. **Basics of stress adaptation and implications in new generation foods**. Microbial stress Adaptation and food Satefy. Yousef, A.E. and Juneja, V. H. (eds), CRC Press, Washington, USA, 369p. 2003.
- ZHOU, K. et al. **Effect of periodic fluctuation in the osmotic environment on the adaptation of *Salmonella***. Food Microbiology, v. 30, p. 298–302, 2012
- ZHOU, K. et al. **Lag Phase of *Salmonella enterica* under osmotic stress conditions**. Appl. Environ. Microbiol. v. 77, n. 5, p. 1758–1762, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/aem.02629-10>
- ZWIETERING M., JONGENBURGER I., ROMBOUITS F., VANT RIET K. **Modeling of the bacterial-growth curve**. Applied and Environmental Microbiology, v. 56, p. 1875-1881, 1990.
- ZWIETERING M.H., ROMBOUITS F.M., VAN'T RIET K. **Some aspects of modelling microbial quality of food**. Food Control. v. 4, p. 89 – 96, 1993.
- ZURERA-COSANO G., CASTILLEJO-RODRÍGUEZ A.M., GARCÍA-GIMENO R.M., RINCÓN-LEÓN F. **Performance of response surface model for prediction of *Leuconostoc mesenteroides* growth parameters under different experimental conditions**. Food Control, v. 17, p. 429-438, 2006.