

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO, TECNOLOGIA E HIGIENE DE
ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL**

***Avaliação de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* em fígados suínos,
através da técnica de reação em cadeia da polimerase.***

Anna Luiza Gisler Maciel

Porto Alegre
2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO, TECNOLOGIA E HIGIENE DE
ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL**

***Avaliação de Salmonella, Listeria monocytogenes e Campylobacter em fígados suínos,
através da técnica de reação em cadeia da polimerase.***

Autor: Anna Luiza Gisler Maciel

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal.

Orientador: Prof. Dr. Guiomar Bergmann
Co-orientadora: Dr^a. Fabiana Quoos Mayer

Porto Alegre
2015

Anna Luiza Gisler Maciel

Avaliação de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* em fígados suínos, através da técnica de reação em cadeia da polimerase.

Aprovada em:

APROVADO POR:

Prof. Dr.
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dr.
Membro da Comissão

Prof. Dr.
Membro da Comissão

Prof. Dr.
Membro da Comissão

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença das bactérias *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, e *Campylobacter jejuni* em fígados de suínos de um matadouro-frigorífico situado na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul-Brasil. Estes micro-organismos estão envolvidos dentre os principais agentes causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's). A identificação da presença destes agentes foi feita através da extração de DNA tecidual e PCR específico, para determinar a frequência destas bactérias nos fígados. O protocolo de extração escolhido mostrou-se bastante eficiente para extração do DNA de *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, e *Campylobacter jejuni*, pois permitiu a obtenção de DNA em quantidade e com qualidade suficiente para amplificação em eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Foram avaliados 165 fígados de suínos, destes, três fígados (1,81%) foram positivos na análise do PCR para *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*, e nenhum mostrou-se positivo para *Campylobacter*. A carne suína pode ser veículo de transmissão de alguns patógenos, como as bactérias de origem entérica, ou pela contaminação por bactérias patogênicas no momento do abate. Este trabalho mostrou a eficiência do serviço de inspeção federal quanto a avaliação de fígados suínos, junto a linha de inspeção. A presença de bactérias patogênicas, neste acompanhamento foi baixa, mas tratando-se de saúde humana, por menor que seja a incidência não poderia ocorrer a liberação do material para consumo humano, pois poderiam vir a causar um comprometimento a saúde humana. Testes laboratoriais que garantem a precisão do diagnóstico como o PCR são de extrema importância, pois são rápidos, eficientes, precisos e impedem que um produto de valor alimentício apresente falsa garantia a saúde humana.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the presence of bacteria Salmonella spp., Listeria monocytogenes, and Campylobacter jejuni in pig livers of a slaughterhouse fridge located in the Northwest region of Rio Grande do Sul, Brazil. These microorganisms are involved among the leading causes of Foodborne Diseases (DTA's). The identification of these agents was made through tissue DNA extraction and specific PCR to determine the frequency of these bacteria in livers. The chosen extraction protocol proved to be very efficient for extracting the DNA of Salmonella spp., Listeria monocytogenes, and Campylobacter jejuni, as afforded the amount of DNA in and sufficient quality for amplification in agarose gel electrophoresis to 1.5%. They were evaluated 165 livers of pigs, these three livers (1.81%) were positive by PCR analysis for Salmonella spp. and Listeria monocytogenes, and none was positive for Campylobacter. The meat swine can be of some pathogens transmission vehicle, as bacteria of enteric origin, or by contamination by pathogenic bacteria at the slaughter moment. This work showed the efficiency of federal inspection service as the evaluation of pig livers, along the inspection line. The presence of pathogenic bacteria, this monitoring it was low, but in the case of human health, no matter how small the incidence could not occur release of material for human consumption, they could turn out to cause a compromise human health. Laboratory testing to ensure the accuracy of the diagnosis as the PCR are extremely important, they are fast efficient, accurate and prevent a product of nutritional value presents a false guarantee human health.

SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	06
1	INTRODUÇÃO.....	07
2	OBJETIVOS.....	09
2.1	Objetivo geral.....	09
2.2	Objetivos específicos.....	09
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
3.1	<i>Salmonella</i> spp.....	10
3.2	<i>Listeria monocytogenes</i>.....	10
3.3	<i>Campylobacter jejuni</i>.....	11
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
4.1	Amostras.....	13
4.2	Análise molecular.....	13
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
6	CONCLUSÃO.....	18
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTAs – Doenças Transmitidas por Alimentos

PCR – Reação em cadeia da polimerase

DNA – Ácido desoxirribonucleico

mg – Miligramas

μL – Microlitros

μM – Micromolar

mM – Milimolar

M – Molar

TEN – Tris-EDTA-NaCl

SDS – Dodecil sulfato de sódio

NaCl – Cloreto de sódio

rpm – Rotação por minuto

TE – Tris-EDTA

pH – Potencial de hidrogênio

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

RNAse – Ribonuclease

dNTP – Desoxirribonucleotídeos trifosfato

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura vem crescendo consideravelmente e significativas mudanças na cadeia de produção estão sendo implantadas (Bessa, 2006). A carne suína é considerada a fonte de proteína animal mais consumida no mundo, sendo relativamente o dobro da carne bovina (SEAB, 2013). Na economia nacional, a suinocultura ocupa lugar de destaque, buscando uma produção de alimentos de qualidade, com o intuito de aumentar a disputa por novos mercados (Ferronato, 2010). Nos últimos vinte anos, especialistas brasileiros investiram na evolução genética da espécie suína, o que tornou a carne mais magra e nutritiva. No ranking de produção e exportação mundial da carne, o Brasil ocupa o quarto lugar (MAPA, 2015). A produção deste alimento vem crescendo principalmente nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, e Paraná, em torno de 4% ao ano, sendo o Brasil considerado exportador de 10% do volume de carne suína no mundo (MAPA, 2015).

A produção de alimentos é considerada importante tanto para alimentação como para atividade econômica, por isso a importância de um produto inócuo e apto para o consumo humano; as doenças e os danos transmitidos por alimentos contaminados podem ser fatais ao ser humano (Corrêa, 2008). A morte de cerca de dois milhões de pessoas por ano está relacionada ao consumo de alimentos não seguros; a presença de substâncias químicas, vírus, parasitas, ou bactérias nos alimentos são os responsáveis por mais de 200 tipos de doenças, variando de diarreia ao câncer (OMS, 2015).

Constantemente surgem novas ameaças à segurança dos alimentos, como alterações na produção, distribuição e no consumo de alimentos; novos patógenos, resistência antimicrobiana, e alterações no ambiente, todos desafiando os sistemas nacionais de segurança alimentar (OMS, 2015).

Os alimentos de diferentes origens e naturezas podem veicular agentes patogênicos, principalmente quando a cadeia produtiva não mantém medidas rigorosas de higiene e prevenção de contaminação (Samulak *et al.*, 2011). Muitos dos agentes patogênicos pertencem a microbiota natural dos animais de corte (narinas, faringe, tonsilas, cavidade bucal, tecido linfático e trato digestivo) e contaminam as carcaças durante o abate, ou são transportados do ambiente contaminado para as mesmas, pelos equipamentos, utensílios, manipulador ou pela água, motivo pelo qual se dá o envolvimento das carnes e dos produtos cárneos na ocorrência das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), sendo as bactérias as mais frequentemente associadas aos casos de transmissão destas doenças (Matsubara, 2005).

A contaminação da carne suína pode ter origem no sistema de produção, durante o abate ou na fase de processamento, manipulação, industrialização e conservação (EMBRAPA, 2006). A carne suína pode ser veículo de transmissão de alguns patógenos, como as bactérias de origem entérica, ou pela contaminação por bactérias patogênicas no momento do abate, sendo este com comprovado envolvimento na contaminação cruzada de carcaças e subprodutos contaminados (Matsubara, 2005; Bessa, 2006). Na maioria das vezes, as sorovariedades de bactérias que os suínos são expostos permanecem nos animais, que se tornam portadores assintomáticos e de difícil identificação (Bessa, 2006). Os animais aparentemente são portadores de *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Shigella* spp, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*, e estar livres de sintomas de infecção (Matsubara, 2005).

Bactérias como *Campylobacter jejuni/coli*, *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, são passíveis de serem transmitidas para a carne, durante o abate de suínos, sendo que os micro-organismos *Aeromonas* spp., *Listeria* spp. e *Staphylococcus aureus*, podem ser endêmicos no ambiente de processamento, podendo ser controlados por meio de limpeza e desinfecção adequada do local (Borch, 1996). O controle ocorre inicialmente nos sistemas de criação de suínos, através de medidas que visam evitar o estabelecimento e a transmissão de patógenos entre os animais (EMBRAPA, 2006). Conforme EMBRAPA (2006) estas medidas juntamente com a fiscalização feita nas linhas de inspeção no abate, minimizam os riscos de transmissão de infecções e toxinfecções através da carne para o consumidor final.

Sendo assim, é de suma importância o controle de qualidade dos alimentos para proteger os consumidores, no sentido de reduzir a incidência das DTAs (Corrêa, 2008). Após o abate dos animais, métodos como análises microbiológicas são adotados para manter os produtos de origem animal, seguros e inócuos à saúde humana. Algumas técnicas são utilizadas para o controle de micro-organismos, como o isolamento bacteriano, e também a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo avaliar a presença de bactérias, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, e *Campylobacter jejuni* em fígados de suínos.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Coletar amostras de fígados suínos em matadouro-frigorífico localizado na região Noroeste do Rio Grande do Sul;

2.2.2 Realizar exame histopatológico das amostras;

2.2.3 Realizar extração de DNA tecidual e PCR específico para *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, e *Campylobacter jejuni*;

2.2.4 Determinar a frequência destas bactérias nos fígados de suínos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. pertence a família *Enterobacteriaceae*, são bactérias em forma de bastonetes, gram-negativas, sendo responsáveis por doenças nos animais e nos seres humanos (European Commission, 2000). O trato intestinal de humanos e de alguns animais é o habitat natural desta bactéria (Tortora *et al.*, 2012); para Bessa (2006) é considerado um dos micro-organismos mais envolvidos em toxinfecções alimentares, sendo que sua presença em carcaças e derivados de suínos, além de gerar barreiras para a exportação representa um sério risco à saúde pública.

Em suínos, a salmonelose possui características intermitentes e às vezes assintomáticas, sendo que uma das formas mais importantes de disseminação na granja e em todo o processo de produção são os portadores assintomáticos (Turci *et al.*, 2013). Durante o abate, quando há contaminação, a bactéria pode se espalhar na carne durante os processamentos dos corte e trituração, representando uma importante disseminação de *Salmonella* spp. para os seres humanos (Oliveira *et al.*, 2012; Dias *et al.*, 2013).

Existem várias sorovarietades de *Salmonella* spp., sendo que as sorovarietades *Typhimurium* e *Enteritidis* são transmitidas por alimentos e podem causar infecções gastrointestinais com gravidade variável (European Commission, 2000). Em países em desenvolvimento a febre entérica (febre tifóide e paratifóide) é considerada um problema à saúde que ainda persiste (Kanungo *et al.*, 2008).

A salmonelose tem um período de incubação em média de 48 horas, sendo que os alimentos de origem animal são os que apresentam maior frequência (Rall *et al.*, 2009). Nos humanos a infecção causa febre, diarreia, dor abdominal, e náuseas, com duração geralmente de quatro a sete dias (WHO, 2015).

3.2 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é uma bactéria anaeróbia, gram-positiva, e está presente na natureza, podendo ser encontrada no solo como também nas fezes de animais e seres humanos (European Commission, 2000). Todas as cepas são consideradas potencialmente patogênicas para o homem, pois nenhum método de (sub) tipagem pode ser usado para discriminar a patogenicidade das mesmas (European Commission, 2000). Esta é um patógeno intracelular

facultativo, podendo crescer em células epiteliais, fibroblastos cultivados e em macrófagos. A bactéria é carregada por via hematogênica para o fígado, baço e linfonodos mesentéricos, após atravessar a barreira intestinal (Ferronato, 2010).

Esta bactéria é considerada um agente psicrotrófico, cresce em temperaturas menores do que 7 °C, sendo associada à deterioração de carnes processadas e de produtos de laticínios (Carvalho, 2010). São relativamente tolerantes a elevadas concentrações de sal e a pHs de 5,0 a 9,0, sendo capaz de formar biofilmes e persistir por longos períodos em materiais usados nos equipamentos de processamento de alimentos, como aço inoxidável e borracha (Ratti *et al.*, 2010, Wong, 1998).

L. monocytogenes é considerada um dos principais agentes patogênicos alimentares para humanos, sendo que a listeriose pode ocorrer como uma doença esporádica ou em surtos, quando relacionados com produto alimentar (Chasseignaux *et al.*, 2001). Com base nos dados publicados internacionalmente, a incidência de listeriose em humanos é relatada entre um e quinze casos por milhão de habitantes por ano, e a letalidade está entre 20 e 40%, aumentando para 75% em indivíduos imunocomprometidos (European Commission, 2000). Frequentemente a infecção resulta em meningite com ou sem septicemia, ou somente em septicemia e em gestantes pode ocorrer a síndrome gripal auto limitada podendo atingir o feto causando o aborto espontâneo, morte fetal ou nascimento prematuro, e podendo levar a infecções do sistema nervoso central (European Commission, 2000; Ratti *et al.*, 2010).

A fim de avaliar a presença ou não do agente patogênico, os métodos de diagnóstico tradicionais de isolamento de *L. monocytogenes* exigem enriquecimento seletivo, plaqueamento em meio seletivos, caracterização bioquímica dos isolados, o que requer vários dias para conclusão. Em alimentos é possível a detecção do agente por PCR, sendo um método rápido, mais oportuno que a pesquisa convencional diante de um surto de infecção alimentar (Bisneto, 2012). Outros métodos de caracterização são a sorotipagem e fagotipificação (métodos fenotípico), assim como análise de restrição do DNA com eletroforese em gel em campo pulsado, ribotipagem (métodos de genotipagem) (Chasseignaux *et al.*, 2001).

3.3 *Campylobacter jejuni*

Campylobacter spp. pertencem a família *Campylobacteraceae*, com 25 espécies entre eles *Campylobacter jejuni* (*Campylobacter jejuni* subsp. *doylei*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*) (Gomes, 2013). São bactérias gram-negativas, microaerófilas que se adaptam bem ao

ambiente intestinal dos animais, sendo que 60% dos bovinos excreta esta bactéria nas fezes e no leite, havendo menos probabilidade de contaminação na carne vermelha (Tortora *et al.*, 2012). *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* são bactérias termofílicas, crescem em temperatura de 42 °C, não sobrevivem a temperaturas de pasteurização, não se multiplicam em temperaturas de até 30 °C, e podem resistir por períodos prolongados ao congelamento, distinguindo-se das outras *Campylobacter* spp. (European Commission, 2000).

A infecção por esta bactéria pode ocorrer pelo consumo de carne crua ou mal cozida, leite não pasteurizado, ou outros alimentos ou água contaminados, pelo manuseio inadequado do alimento, desde que entre contato com fezes de animais infectados (Noormohamed e Fakhr, 2013; USDA, 2013). Estudos mostram que o consumo de pouca quantidade da bactéria, aproximadamente 500 células, pode causar doença, embora o agente possa existir no trato intestinal de pessoas e animais sem causar sintomas ou doença (USDA, 2013).

Nos Estados Unidos, *Campylobacter jejuni* é uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos com uma estimativa de dois milhões de casos de gastroenterite por ano (Tortora *et al.*, 2012). Os sintomas clínicos são caracterizados por cólica, dor abdominal, diarreia podendo se apresentar sanguinolenta ou não, e acompanhada de febre ou não, náuseas e vômitos. Os sintomas iniciam após dois a cinco dias de exposição ao organismo e normalmente duram cerca de uma semana (CDC, 2014). Em pessoas com sistema imunológico comprometido o *Campylobacter* spp. pode se espalhar pela corrente sanguínea e provocar uma infecção grave como a síndrome de Guillain-Barré, uma doença neurológica rara, causada por complicação da infecção por este agente (Tortora *et al.*, 2012; CDC, 2014).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

Durante os meses de junho a agosto de 2013, foram coletados 165 fígados de suínos (cinco a seis meses de idade) aptos ao consumo, em um matadouro-frigorífico sob inspeção federal da região Noroeste do Rio Grande do Sul. Os fígados para análise foram coletados após serem inspecionados pelo Serviço de Inspeção Federal. As amostras foram armazenadas a -20 °C até a extração de DNA.

4.2 Análise molecular

A extração foi realizada utilizando-se 250 mg de tecido que foram incubados em 885 µL de tampão de lise (800 µL de TEN 2x; 80 µL de SDS 10%; 5 µL de proteinase K) por 4 horas a 37°C. Após, a amostra foi centrifugada a 12,000 x g durante 1 minuto e 300 µL de sobrenadante foi transferido para um novo tubo ao qual foram adicionados 300 µL NaCl 1,6 M e 1 volume de clorofórmio/álcool isoamílico (1:24). A amostra foi então centrifugada a 8.000 rpm por 5 minutos a 4 °C e 500 µL do sobrenadante foi transferido para outro tubo ao qual foram adicionados outros 500 µL de clorofórmio/álcool isoamílico (1:24). Após centrifugação por 5 minutos a 4 °C, o sobrenadante foi coletado e 1 mL de etanol absoluto gelado foi adicionado para a precipitação do DNA. As amostras foram incubadas por 30 minutos a -20 °C e centrifugadas a 14.000 rpm por 20 minutos a 4 °C. Após, o sobrenadante foi descartado, 1 mL de etanol 70% gelado foi adicionado, seguido de uma centrifugação por 5 minutos a 14.000 rpm a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e após seco, o sedimento foi ressuspensionado em 50 µL de TE (10 mM Tris pH 7,4; EDTA 1 mM, pH 8,0) com 0,5 µL de RNase, e incubado à 37 °C por 30 minutos. A quantidade e qualidade do DNA foram verificadas por espectrofotometria de microvolumes (Teixeira *et al.*, 2013).

Após a extração de DNA foi realizada PCR para *Salmonella* spp. e PCR multiplex para *L. monocytogenes* e *C. jejuni* (Tabela 1). As condições da PCR foram as seguintes: 0,4 µM de cada primer, 1 × tampão de PCR, 0,1 mM de cada dNTP, 1,5 mM de cloreto de magnésio, e 1 unidade de Taq DNA polimerase (todos os reagentes de PCR a partir de Invitrogen, EUA). A desnaturação inicial foi realizada a 95 °C por cinco minutos, seguido por 35 ciclos de 95 °C por 45 segundos; 59 °C (*Salmonella* spp.) ou 58 °C (*L. monocytogenes* e *C. jejuni*) por 45 segundos, seguido de 72 °C por 45 segundos com alongamento final de sete

minutos a 72 °C. O produto foi amplificado através de eletroforese com gel de agarose de 1,5 % (w/v) e visualizado pelo transiluminador.

Tabela 1. Sequências dos oligonucleotídeos a serem utilizados no presente trabalho.

Alvo	Oligonucleotídeo <i>Forward</i>	Oligonucleotídeo <i>Reverse</i>	Referência
<i>Salmonella</i>	P139 5'GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA3'	P14In 5'TCATCGCACCGTCAAAGGAACCGTAA3'	Rahn <i>et al.</i> 1992
<i>L. monocytogenes</i>	Lip1 5'GATACAGAAACATCGGTTGGC3'	Lip3 5'TGACCGCAAATAGAGCCAAG3'	Jofré <i>et al.</i> 2005
<i>Campylobacter</i>	Jej1 5'CCTGCTACGGTGAAAGTTTTGC3'	Jej2 5'GATCTTTTGTGTTTGTGCTGC3'	Gonzalez <i>et al.</i> 1997

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca de diagnósticos precisos que contribuam para a identificação dos agentes causadores de doenças transmitidas pelos alimentos é uma constante. No serviço de inspeção os cuidados no diagnóstico e na manipulação dos produtos de origem animal seguem regras determinadas pelo Ministério da Agricultura, assim como as determinadas pelo controle de qualidade ligado a empresa processadora do produto.

O protocolo escolhido mostrou-se bastante eficiente para extração do DNA de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, e *Campylobacter jejuni*, pois permitiu a obtenção de DNA em quantidade e com qualidade suficiente para amplificação em eletroforese em gel de agarose a 1,5%.

Foram avaliados 165 fígados de suínos, destes, três fígados (1,81%) foram positivos na PCR para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, e nenhum mostrou-se positivo para *Campylobacter*.

Lira (2008) pesquisando animais suspeitos de brucelose faz referência à ausência de alterações visíveis em diversos órgãos, com avaliação negativa, contrastando com a presença do DNA do agente pela PCR, demonstrando assim que a ausência de alterações visíveis não exclui a possibilidade do animal apresentar brucelose e ser uma fonte de infecção.

De acordo com Bessa (2006) *Salmonella* spp. é considerada o agente mais envolvido em toxinfecções alimentares, causando um sério risco à saúde pública. Neste trabalho 1,81% dos fígados foram positivos para *Salmonella* spp. indicando uma baixa frequência de contaminação. Entretanto este agente é responsável por processos e sérios transtornos à saúde humana e animal, cursando com febre, diarreia, dor abdominal, e náuseas (WHO, 12015).

Em comparação com um estudo realizado na Embrapa Suínos e Aves, após a inoculação oral de *Salmonella* Typhimurium em suínos, a frequência de isolamento de *Salmonella* nos diferentes órgãos foi de 34,7% no fígado, 45,8% no baço, 69% no conteúdo cecal, 68,33% no pulmão, 89,5% nas tonsilas e 57,5% nos linfonodos mesentéricos (Biesus *et al.*, 2010). As mesmas amostras foram confirmadas através de sorotipificação e a subtipificação por macro restrição em eletroforese em campo pulsado (PFGE) da cepa inoculada. Esta inoculação da bactéria produz uma distribuição sistêmica para os diferentes órgãos, sendo que o fígado, baço e tonsilas são considerados um risco potencial de carrear a bactéria durante o abate e processamento dos produtos de origem suína (Biesus *et al.*, 2010).

Na Islândia, Gudmundsdottir *et al.*, (2003) analisaram cepas de *Salmonella enterica* sorotipo *Typhimurium* de origem animal e humana, por PFGE e fagotipificação (PT), os

resultados suportaram a hipótese que a transmissão de *Salmonella* foi dos animais para os seres humanos. Estudos realizados no RS constataram, no abate de suínos, níveis expressivos de animais portadores de *Salmonella* spp. (Bessa, 2006). De acordo com Bessa (2006) os sorovares isolados mais frequentes foram Typhimurium e Bredeney, representando uma fonte de contaminação para outros animais e para o produto final.

Em estudo, com objetivo semelhante, realizado por Lira (2008) e por Campos *et al.*, (2009), através de exames complementares ao diagnóstico macroscópico em carcaças e vísceras sem a presença de alterações no momento de inspeção *post-mortem* encontraram resultados positivos, enfatizando assim a necessidade do monitoramento das enfermidades infectocontagiosas. Ressaltam também a importância do diagnóstico rápido o que garante o destino correto das vísceras dos animais abatidos.

No presente trabalho após o processamento das vísceras no laboratório, os resultados apresentaram índices positivos em 1,81% para *Listeria monocytogenes*. Comparando com outros estudos, Sasaki *et al.*, (2013) avaliaram 110 fígados suínos e uma amostra foi positiva no isolamento para *L. monocytogenes*. As fontes de contaminação nos alimentos podem ocorrer em indústrias de produção, onde pode haver contaminação cruzada (Chasseignaux *et al.*, 2001). A contaminação de produtos cozidos de carne também pode ocorrer após o processamento térmico (Chaitiemwong *et al.*, 2010).

Peccio *et al.*, (2003) isolaram *L. monocytogenes* de produtos processados (carne picada, sal e nitritos) e de carne crua, sendo que a contaminação foi mais frequente em produtos como a salsicha, esta bactéria foi também encontrada no amassador e picador de carne. Segundo a IN (2009), no que se refere a *L. monocytogenes* os produtos de origem animal, positivos para esta bactéria podem ser reprocessados para destruição deste micro-organismo para que sejam próprios ao consumo humano.

Em 2009 na União Européia, o número de casos confirmados de listeriose em humanos foi de 1,645, um aumento de 19,1% com relação a 2008. Alimentos com resultados acima do limite de segurança jurídica foram frequentemente relatados em produtos de carne, pesca, e queijos, com níveis de 0,3% a 1,1% (European Food Safety Authority, 2011).

Neste trabalho todos os fígados suínos foram negativos para *Campylobacter jejuni*. Em estudo realizado por Sasaki *et al.*, (2013) constataram que de 110 fígados suínos, 14 amostras foram positivas na PCR para *Campylobacter*, sugerindo um aumento do risco de doenças transmitidas por alimentos quando consumido fígado suíno sem tratamento adequado pelo calor.

A PCR como meio de diagnóstico mostra-se eficiente para contribuir com a segurança alimentar, como diagnóstico específico, sensível e rápido (Fuverki *et al.*, 2008). Contribui com a identificação rápida de agentes patogênicos em alimentos, contribuindo assim com a saúde do homem, impedindo o consumo de alimentos contaminados.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou a eficiência do serviço de inspeção federal quanto a avaliação de fígados suínos, junto a linha de inspeção. A presença de bactérias patogênicas, neste acompanhamento foi baixa, mas tratando-se de saúde humana, por menor que seja a frequência não poderia ocorrer a liberação do material para consumo humano, pois poderiam vir a causar um comprometimento à saúde humana. Testes laboratoriais que garantem a precisão do diagnóstico como a PCR são de extrema importância, pois são rápidos, eficientes, precisos e impedem que um produto de valor alimentício apresente falsa garantia a saúde humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BISNETO, J. P. G. **Listeria monocytogenes: um perigo presente nos alimentos.** Trabalho de conclusão de curso – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

BIESUS, L.L; GUGEL, L. A; CALVEYRA, J. C.; NOGUEIRA M.; KICH, J. D.; BESSA. M. C. Distribuição de *Salmonella typhimurium* em órgãos de suínos após inoculação oral. In: JINC – 4ª Jornada de Iniciação Científica Embrapa/UnC, 2010, Concórdia. Disponível em: <www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/870031/1/LuisaBiesus.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2014.

BESSA, C. M. **Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium isoladas de suínos no Rio Grande do Sul.** 2006. Tese (Requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias Especialidade na área de Bacteriologia). Disponível em: <www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/6269/000527822.pdf?sequence=1>. Acesso em: 20 dez. 2014.

BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **Int J Food Microbiol.** p. 9-25, jun, 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8856371>>. Acesso em: 13 mar. 2015.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia de Alimentos.** Recife: EDUFRPE, 2010. 86 p. Disponível em: <http://200.17.98.44/pronatecwp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_dos_Alimentos.pdf>. Acesso em: 17 fev. 2015.

CAMPOS, D. I.; COELHO, H. E.; KAMIMURA, R.; ARANTES, V. M. A. Alterações microscópicas em linfonodos de bovinos sorologicamente positivos para brucelose. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v.12, n. 2, p. 123-127, jul./dez. 2009. Disponível em: <revistas.unipar.br/veterinaria/article/view/2965/2166>. Acesso em: 29 nov. 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases: Campylobacter**. Estados Unidos da América, 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/>>. Acesso em: 06 mai. 2015.

CHAITIEMWONG, N.; HAZELEGER, W. C.; BEUMER, R. R. Survival of *Listeria monocytogenes* on a conveyor belt material with or without antimicrobial additives. **International Journal of Food Microbiology**, p. 260-263, jun. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20655607>>. Acesso em: 26 fev. 2015.

CHASSEIGNAUX, E.; TOQUIN, M. T.; RAGIMBEAU, C.; SALVAT, G.; COLIN, P.; ERMEL, G. Molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolates collected from the environment, raw meat and raw products in two poultry- and pork-processing plants. **Journal of Applied Microbiology**, p. 888±899, mai. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11722667>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

DIAS, F. S.; RAMOS, C. L.; DE ÁVILA, A. R. A.; SANTOS, M. R. R. M.; SCHWAN R. F. Identification of *Salmonella* isolated from pork sausage and evaluation of thermal and antimicrobial resistance of isolates. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, p. 5070-5075, out. 2013. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/article/article1382977285_Dias%20et%20al.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2015.

EUROPEAN COMMISSION. OPINION OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH ON FOOD-BORNE ZONOSSES. **Scientific Health Opinions**, 2000. Disponível em: <ec.europa.eu/food/fsscscvout32_en.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2014.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. **EFSA Journal**, 2011. Disponível em: <www.efsa.europa.eu/foodsearchdoc2090.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2015.

EMBRAPA. **Boas Práticas de Produção de Suínos**. Circular Técnica. Concórdia – SC, dez. 2006. Disponível em:

<http://www.cnpsa.embrapa.brsgcsgc_publicacoespublicacao_k5u59t7m.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2015.

FERRONATTO, A. I. **Contaminação de carcaças e ambiente por *Listeria sp.* em diferentes etapas do abate de suínos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/27030/000763164.pdf>>. Acesso em: 03 fev.

FUVERKI, R. B. N.; MURAKAMI, P. S.; BIONDO, A. W.; BARROS FILHO, I. R. Uso da PCR para detecção e identificação de microbactérias a partir de amostras clínicas de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.73-77, 2008.

GOMES, M. J. P. Gênero *Campylobacter* spp. **FAVET-UFRGS**, Porto Alegre, 2013. Disponível em: <www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Campylobacter%204-2013-1.pdf>. Acesso em: 02 mai. 2015.

GONZALEZ, I.; GRANT, K. A.; RICHARDSON, P. T.; PARK, S. F.; & COLLINS, M. D. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant.

Journal of Clinical Microbiology, p. 759–763, mar. 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC229667/pdf/350759.pdf>>. Acesso em: 18 mar. 2015.

GUDMUNDSDOTTIR, S.; HARDARDOTTIR, H.; GUNNARSSON, E. Subtyping of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Outbreak Strains Isolated from Humans and Animals in Iceland. **Journal of clinical microbiology**, p. 4833–4835, jun. 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC254312/pdf/0287.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

JOFRÉ, A.; MARTIN, B.; GARRIGA, M.; HUGAS, M.; PLA, M.; RODRÍGUEZ-LÁZARO, D.; & AYMERICH, T. Simultaneous detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by

multiplex PCR in cooked ham. **Food Microbiology**, p. 109–115, jan. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002004000711>>. Acesso em: 11 fev. 2015.

KANUNGO, S.; DUTTA, S.; SUR, D. Epidemiology of typhoid and paratyphoid fever in India. **J Infect Developing Countries**, p. 454-60, set. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19745523>>. Acesso em: 05 abr. 2015.

LIRA, N. S. C. **Lesões anatomopatológicas e detecção da Brucellaovis cepa REO 198 em ovinos inoculados experimentalmente pelas vias intrapreucial e conjuntival simultaneamente**. 2008. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, FMVZ/UNESP, Botucatu, São Paulo. Disponível em: <www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=113320>. Acesso em: 11 ago. 2010.

MATSUBARA, E. N. **Condição higiênico-sanitária de meias-carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise da utilização de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. São Paulo, 2005. Disponível em: <www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/.../tde.../EstherNaomiMatsubara.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2015.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Suínos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>>. Acesso em: 25 fev. 2015.

OLIVEIRA, M., VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS DA COSTA, P.; VILELA, C. L.; MARTINS, C.; BERNARDO, F. Occurrence of Salmonella spp. in samples from pigs slaughtered for consumption: A comparison between ISO 6579:2002 and 23S rRNA Fluorescent In Situ Hybridization method. **Food Res. Int**, p. 984-988, ago. 2012. Disponível em: <http://www.researchgate.net/profile/Madalena_Vieira-Pinto/publication/236335195_Artigo_16_Salmonella_FISH_FRI/links/00b7d517ae5013d48e000000.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). 2015. Disponível em:
<<http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2015/event/en/>>. Acesso em: 10 mai. 2015.

PECCIO, A.; AUTIO, T.; KORKEALA, H.; ROSMINI, R.; TREVISANI, M. *Listeria monocytogenes* occurrence and characterization in meat-producing plants. **Letters in Applied Microbiology**, p. 234–238, jun. 2003.

RALL, V. L. M.; MARTIN, J. G. P.; CANDEIAS, J. M. G.; CARDOSO, K. F. G.; DA SILVA, M. G.; RALL, R.; ARAÚJO, J. P. J. Pesquisa de *Salmonella* e das condições sanitárias em frangos e linguças comercializados na cidade de Botucatu. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.**, v. 46, n. 3, p. 167-174, São Paulo, 2009. Disponível em:
<<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26763/28546>>. Acesso em: 25 mai. 2015.

RATTI, R. P.; GOMES, B. C.; MARTINEZ, R. C. R.; SOUZA, V. M.; DE MARTINIS, E. C. P. Elongated cells of *Listeria monocytogenes* in biofilms in the presence of sucrose and bacteriocin-producing *Leuconostoc mesenteroides* A11. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 1011-1016, out-dez. 2010. Disponível em: <<httpwww.scielo.brpdfctav30n4v30n4a27>>. Acesso em: 18 fev. 2015.

RAHN, K.; DE GRANDIS, S. A.; CLARKE, R. C.; MCEWEN, S. A.; GALAN, J. E.; GINOCCHIO, C.; CURTISS, 3RD. R.; & GYLES, C. L. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. **Molecular and Cell Probes**, p. 271–279, ago. 1992.

SAMULAK, R. L.; ZANETTI, G. F.; RODRIGUES, S. Á.; BITTENCOURT, J. V. M. Condição higiênico - sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica de embutidos no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v. 05, p. 408-417, 2011.

SASAKI, Y.; HARUNA, M.; MURAKAMI, M.; HAYASHIDA, M.; ITO K.; NODA, M.; YAMADA, Y. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and Hepatitis E Virus in Swine Livers Collected at an Abattoir. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, Japão, p. 161-164, jan. 2013. Disponível em:
<https://www.jstage.jst.go.jp/article/yoken/66/2/66_161/_pdf>. Acesso em: 13 abr. 2015.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO (SEAB).

Suínocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária. 2013. Disponível em:

<www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/SuinoCultura_2012_2013.pdf>.

Acesso em: 24 fev. 2015.

TEIXEIRA, T. F.; DEZEN, D.; CIBULSKI, S. P.; VARELA, A.P.; SHEFFER, C. M.; HOLZ, C.L.; DOS SANTOS, H. F.; FRANCO, A. C.; ROEHE, P. M. Torque teno sus virus (TTSuV) in tissues of pigs and its relation with the occurrence of postweaning multisystemic wasting syndrome. **Virus Genes**, Nova Iorque, p. 276-81, jun. 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 10. ed. Porto Alegre:

Artmed, 2012.

TURCIR, C.; BEGOTTI I, L.; MERLINI L, S. Incidência de *Salmonella* sp. em carne de suíno comercializada no município de Umuarama-PR – Brasil. **Enciclopédia**

Biosfera/Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.9, n.16; p. 2748-53, jul. 2013. Disponível em:

<www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/INCIDENCIA%20DE%20Salmonella.pdf>.

Acesso em: 25 abr. 2015.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Food Safety and**

Inspection Service: Campylobacter Questions and Answers. 2013. Disponível em:

<<http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/foodborne-illness-and-disease/campylobacter-questions-and-answers/>>.

Acesso em: 06 mai. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Temas de saúde Salmonella.** 2015.

Disponível em: <www.who.int/topics/salmonella/en/>. Acesso em: 25 mai. 2015.

WONG, A. C. L. Biofilms in food processing environments. **Journal of Dairy Science**, p.

2765–2770, mai. 1998. Disponível em: <[http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(98\)75834-5/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(98)75834-5/pdf)>. Acesso em: 13 jan. 2015.