

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

**INVESTIGAÇÃO DE *LISTERIA* SP. E MICRORGANISMOS MESÓFILOS TOTAIS EM  
CARÇAÇAS BOVINAS E EM AMBIENTE INDUSTRIAL DE ABATEDOURO  
FRIGORÍFICO**

JULIANA GUEDES SILVEIRA  
BIOMÉDICA

Porto Alegre (RS), Brasil  
Dezembro, 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA  
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

**INVESTIGAÇÃO DE *LISTERIA SP.* E MICRORGANISMOS MESÓFILOS  
TOTAIS EM CARÇAÇAS BOVINAS E EM AMBIENTE INDUSTRIAL DE  
ABATEDOURO FRIGORÍFICO**

JULIANA GUEDES SILVEIRA  
BIOMÉDICA

Dissertação apresentada como requisito  
parcial para obtenção do grau de Mestre em  
Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientador: Dr. Eduardo Cesar Tondo.

Porto Alegre (RS), Brasil

Dezembro, 2010

Catálogo na Publicação  
UFRGS/ICBS/Biblioteca Setorial

S587i Silveira, Juliana Guedes

Investigação de *Listeria* sp. e microorganismos mesófilos totais em carcaças bovinas e em ambiente industrial de abatedouro / Juliana Guedes Silveira . – 2010.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2010.

Orientação: Prof. Eduardo César Tondo

1. Indústrias da carne 2. *Listeria* 3. Resistência microbiana a drogas 4. Bovinos I. Tondo, Eduardo César, orient. II. Título.

CDU 579.67 (043)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Eduardo Cesar Tondo pela oportunidade, orientação, confiança, amizade, ensinamentos, e suas frases marcantes que jamais serão esquecidas. Frases essas que muitas vezes foram a minha motivação, afinal de contas não podíamos “Queimar o Filme” nem “Perder o Foco”.

Um muito Obrigado em especial à Fabi pela companhia de viagem e por toda ajuda, paciência com as planilhas de Excel, amizade, carinho, apoio e compreensão; à Fê pela amizade, pelas suas sessões terapêuticas, afinal de contas o que seríamos sem os florais, à Luiza e à Mari pela ajuda em todos os momentos: antes, durante e após as coletas; a Ana (IC) que mesmo chegando no final, sempre estava disposta a ajudar, a dar um apoio; à Márcia pelo carinho, amizade, por me ajudar a enxergar as coisas boas que estavam acontecendo e as que estavam por vir, por me mostrar que nem tudo era pedra.

A todas as meninas, Cheila; Lê; Daia; Ana Ritter; Pati; Prof<sup>a</sup>. Florência pelo apoio moral, compreensão e carinho.

À minha mãe, por absolutamente tudo, sem ela sei que não teria conseguido nada na minha vida, pois ela sempre foi meu pilar principal; ao meu pai, pelo apoio e credibilidade, aos meus irmãos, Felipe e Mariana, por sempre terem sido o meu exemplo, afinal de contas quando eu crescer quero ser como vocês!

Ao Francisco, que foi e que é muito mais que um namorado, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, incentivando e acreditando em mim, obrigada pelo carinho, paciência, confiança, amor e amizade.

A todos vocês muito obrigada!!!!

*“É melhor tentar e falhar, do que acomodar-se e ver a vida passar.  
É melhor tentar, mesmo que em vão, do que acomodar-se fazendo  
nada até o final.  
Eu prefiro em dias de chuva caminhar, que em dias tristes, em casa me  
esconder.  
Eu prefiro ser feliz, embora louco, do que em conformidade viver.”*

(Martin Luther King)

### RESUMO<sup>3</sup>

A exportação de carne bovina possui lugar de destaque na economia brasileira, e, com o intuito de aumentar a disputa por novos mercados, tem-se buscado a produção de alimentos de qualidade e seguros. Dentro dessa concepção, a presença de *Listeria monocytogenes* constitui uma preocupação, devido à gravidade das infecções, veiculadas por alimentos, em humanos. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de *Listeria* sp. e microrganismos mesófilos totais em carcaças bovinas, em três pontos da linha de abate, verificando os perfis de resistência aos antimicrobianos das *Listeria monocytogenes* isoladas. Também objetivou-se avaliar a presença de *Listeria* sp. no ambiente de produção onde as carcaças foram processadas. Para tanto, suabes de superfície foram utilizados para coletar as amostras no ambiente de produção e nas carcaças bovinas, sendo as amostras ambientais inoculadas em placas Petrifilm para *Listeria* e as amostras de carcaça avaliadas segundo métodos preconizados pela norma ISO 11290. Das 110 carcaças analisadas, 12 foram positivas para *Listeria* sp., as quais: 7 *L. innocua*, 4 *L. monocytogenes*, uma *Listeria* sp. Todas essas amostras foram isoladas do ponto 1, onde os animais ainda estavam com couro. Das 200 amostras ambientais, 25 foram positivas para *Listeria* sp, sendo uma *L. monocytogenes* e 24 *L. innocua*. Os isolados de *L. monocytogenes* foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados. As contagens médias de microrganismos mesófilos totais foram de  $6,3 \times 10^2$ ;  $4,9 \times 10^2$  e  $3,8 \times 10^2$  UFC/100cm<sup>2</sup> nos pontos 1, 2 e 3, respectivamente. Observou-se que no dia em que as contagens totais foram mais elevadas nas carcaças, houve maior número de isolamentos de *L. innocua* no ambiente, sugerindo contaminação cruzada.

**Palavras-Chave:** *Listeria* sp, *Listeria monocytogenes*; carcaça bovina

---

1Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - Microbiologia de Alimentos, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (64 p.) Dezembro, 2010.

## ABSTRACT<sup>4</sup>

The beef export occupies a prominent place in the Brazilian economy, and, with the aim of increasing competition for new markets, have sought the production of quality food and insurance. Within this concept, the presence of *Listeria monocytogenes*, the product is a concern, mainly due to the severity of infections transmitted by food in humans. The objective of this study was to evaluate the presence of *Listeria* sp. And mesophilic microorganism in carcasses of cattle in three points of the slaughter line, checking the profiles of antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated. It also aimed to assess the presence of *Listeria* sp. in the production abattoir environment industrial. For both, surfaces swabs were used to collect samples in the production environmental cattle carcass, environmental samples were inoculated in Petri film's plate for *Listeria* and the samples carcass was evaluated according to the methods suggested by ISO 11290. Of the 110 carcasses, 12 were positives for *Listeria* spp., which were identified as *L. innocua* (7), *L. monocytogenes* (4), *Listeria* sp. (1). All samples were isolated from a point where the animals were still with leather. Of the 200 environmental samples, 25 were positive for *Listeria* sp, being one *L. monocytogenes* and 24 *L. innocua*. Isolates of *L. monocytogenes* were susceptible to all antimicrobials. The average counts of mesophilic microorganism were  $6,3 \times 10^2$ ;  $4,9 \times 10^2$  e  $3,8 \times 10^2$  UFC/100cm<sup>2</sup> in the points 1, 2 e 3, respectively. We could see that on the total counts were higher in the carcasses higher number of *L. innocua* in the environment, suggesting the possibility of cross contamination.

**Key – Word:** *Listeria* sp, *Listeria monocytogenes*, cattle carcass

---

<sup>1</sup> Master of Science dissertation in Agricultural Microbiology, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (64 p.) December, 2010

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	OBJETIVO GERAL: .....	4
2.1	Objetivos Específicos:.....	4
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
3.1	Gênero <i>Listeria</i> .....	5
3.2	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	7
3.3	Listeriose.....	8
3.4	Tratamento da listeriose.....	9
3.5	Ocorrência de <i>Listeria</i> em Alimentos .....	9
3.6	Formação de Biofilmes por <i>Listeria</i> sp. ....	11
3.7	Microrganismos Indicadores – Mesófilos totais.....	12
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4.1	Amostragem .....	15
4.2	Análises Microbiológicas .....	16
4.2.1	Pesquisa, enumeração e caracterização de <i>Listeria</i> sp.....	16
4.3	Susceptibilidade a Antimicrobianos.....	17
4.4	Deteção e Enumeração de <i>Listeria</i> sp. no ambiente industrial .....	18
4.5	Formação e Remoção de Biofilme.....	19
4.5.1	Confecção e Preparação de Corpos de Prova .....	19
4.5.2	Formação dos Biofilmes Sobre os Corpos de Prova.....	19
4.5.3	Análise da Formação de Biofilme .....	20
4.5.4	Remoção de Biofilme .....	20
4.5.5	Remoção de Biofilme com Bacteriocina de <i>Bacillus</i> sp. P11.....	22
4.6	Enumeração de Microrganismos Mesófilos Totais nas Carcaças Bovinas .....	23
5	RESULTADO E DISCUSSÃO .....	25
5.1	<i>Listeria</i> sp. em carcaças bovinas .....	25
5.2	<i>Listeria</i> sp.no ambiente industrial .....	26
5.3	Resistência das <i>L. monocytogenes</i> aos antimicrobianos .....	30
5.4	Contaminação das carcaças por microrganismos mesófilos totais ..	32
5.5	Formação e remoção de Biofilme .....	34
6	CONCLUSÃO .....	37
7	BIBLIOGRAFIA.....	38
8	ANEXO I.....	46

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Diferenciação Bioquímica das espécies de *Listeria*. Pag 13

Tabela 2. Amostras positivas de *Listeria* sp. coletadas em ambiente de processamento de um abatedouro frigorífico exportador de bovinos no Rio grande do Sul. Pag. 30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

APPCC: Programas de Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle

BHI: Brian Heart Infusion

BPF: Boas Práticas de Fabricação

cm: centímetros

DTA: Doença Transmitida por Alimentos

ICTA: Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos

ISO: International Organization for Standardization

L.: *Listeria*

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mL: Mililitro

NCCLS/CLSI: National Committee for Clinical and Laboratory Standards  
Institute

PPHO: Procedimento Padrão de Higiênie Operacional

SIF: Sob Inspeção Federal

TSA: Trypton Soya Ágar

TSAYE: Trypton Soya Agar Yeast Extract

UFC: Unidade Formadora de Colônia

ug: Micrograma

um: Micrômetro

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Listeria* é composto por seis espécies, sendo que a *Listeria* (*L.*) *monocytogenes* emergiu, nos últimos anos, como um importante agente de Doença Transmitida por Alimentos (DTA) (BORGES et al., 2009). A listeriose alimentar caracteriza-se principalmente por septicemia, meningite e, nos casos mais graves, meningoencefalite (JAY, 2005; MONTEVILLE AND MATHEWS, 2008; BORGES et al., 2009), acometendo principalmente idosos, crianças, gestantes e pessoas imunodeprimidas. Devido à alta taxa de mortalidade, baixa dose infectante e capacidade de formação de biofilmes essas bactérias vem despertando atenção especial das autoridades governamentais e da comunidade científica da área de alimentos.

A carne bovina é uma excelente fonte de proteínas de alto valor biológico, de vitaminas do complexo B e de minerais essenciais (especialmente ferro e zinco), sendo muito utilizada na alimentação humana (FELÍCIO, 1998).

As condições sanitárias deficientes durante o abate dos animais, cozimento inadequado, armazenamento impróprio e falta de higiene no preparo dos produtos cárneos são fatores que podem propiciar a presença de bactérias do gênero *Listeria* nesses produtos. Além disso, a comprovação de produtos cárneos contaminados com *L. monocytogenes* pode prejudicar significativamente as exportações, influenciando na economia do país. Neste contexto, as *L. monocytogenes* são atualmente uma grande preocupação para as indústrias de carne e órgãos de fiscalização (KASNOWSKI, 2004).

O meio científico foi despertado para o perigo da listeriose após diversos surtos que ocorreram na década de 80 na América do Norte e Europa (SCHLECH, 1988). Em seguida, diversos surtos também foram registrados em diferentes partes do mundo, demonstrando a severidade da *L. monocytogenes* transmitida por alimentos (JAY, 2005; MONTEVILLE AND MATHEWS, 2008). Embora no Brasil ainda não haja relatos comprovados da transmissão de *Listeria* através de alimentos, causando a listeriose alimentar, muitos trabalhos publicados relatam a presença do microrganismo em alimentos brasileiros (LOVETT, 1988; SCHLECH, 1988; NASCIMENTO; CULLOR, 1994; INTERLAB, 2002). Nesses e em outros estudos, a carne tem sido frequentemente apontada como um dos principais vetores potenciais de listeriose (Brasil, 2009).

Com base nisso, a investigação de *Listeria* sp. na carne e nos ambientes industriais de abatedouros frigoríficos torna-se muito importante, principalmente porque o Brasil é, atualmente, o maior exportador de carne bovina do mundo (Ministério da Agricultura, 2008).

Paralelamente a pesquisa de *Listeria* sp., diversos microrganismos têm sido pesquisados, objetivando, principalmente, a avaliação higiênico-sanitária das carcaças bovinas. A quantificação da população de microrganismos mesófilos aeróbios totais nas superfícies das carcaças é comumente utilizada para isso, e pode fornecer informações importantes sobre os cuidados higiênico-sanitários durante as operações de abate, esola e evisceração (ZWEIFEL & STEPHAN, 2003).

O presente estudo faz parte das atividades a serem desenvolvidas pelo projeto “Implantação de um Centro Colaborador em defesa Agropecuária para Avaliação de Riscos Microbiológicos em Produtos de Origem Animal (CDA-ARMPOA)”, aprovado no EDITAL CNPq/MAPA/SDA número 64/2008, o qual está sendo desenvolvido em parceria com o MAPA e diversos outros Laboratórios de Pesquisa do Brasil. Nesse projeto, um dos principais objetivos é a realização de uma avaliação dos riscos presentes na carne bovina brasileira, sendo que dados sobre avaliações microbiológicas das carcaças bovinas de diferentes partes do Brasil são indispensáveis para isso.

## 2 OBJETIVO GERAL:

Investigar a contaminação de *Listeria* sp. em microrganismos mesófilos totais em carcaças bovinas e em ambiente industrial de um abatedouro-frigorífico exportador.

### 2.1 Objetivos Específicos:

- Isolar *Listeria* sp. que esteja contaminando o ambiente industrial e as carcaças bovinas;

- Avaliar a presença e quantificar as *Listeria* sp. em carcaças bovinas, em três pontos do abate de um abatedouro frigorífico, sob Inspeção Federal, no Rio Grande do Sul;

- Avaliar a presença e quantificar as *Listeria* sp. no ambiente industrial de um abatedouro frigorífico, sob Inspeção Federal, no Rio Grande do Sul;

- Caracterizar as *L. monocytogenes* isoladas quanto à resistência a antimicrobianos;

- Avaliar a correlação da contaminação de *Listeria* sp. nas carcaças bovinas e no ambiente industrial;

- Avaliar a correlação da contaminação de *Listeria* sp. e mesófilos totais nas carcaças bovinas;

- Avaliar a capacidade de formação de Biofilme.

- Testar Hipoclorito de sódio, Ácido Peracético, Quaternário de Amônio e Bacteriocina P11 quanto a capacidade de remoção do Biofilme.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Gênero *Listeria*

Os microrganismos do gênero *Listeria* são bastonetes Gram positivos curtos, não formadores de endósporos, anaeróbios facultativos, em média possuem 1 a 2µm de comprimento e 0,5µm de largura. Dentre as espécies do gênero, a *L. monocytogenes* é a única considerada patogênica e é móvel à temperatura de 10°C a 25°C devido à presença de flagelos peritríquios, apresentando movimento característico denominado “tombamento” ou “turbilhonamento”. A 37°C a movimentação do microrganismo é reduzida notavelmente. O pH de crescimento da *L. monocytogenes* deve ser superior a 4,4, sendo a faixa ideal entre 6,0 e 8,0 (FORSYTHE, 2010 E MONTVILLE E MATTHEWS, 2008).

Em relação às características bioquímicas, *Listeria* sp. são catalase positivas, oxidase negativas, não apresentam hidrólise da uréia, não reduzem o nitrato, são vermelho de metila e Voges-Proskauer positivas, indol negativas e esculina positivas (LOW; DONACHE,1997). Possuem temperatura ótima de crescimento entre 30°C e 37°C, porém a temperatura mínima de crescimento encontra-se entre 1,0°C a 3,0°C e a máxima está próxima a 45°C (BILLE;ROCOURT:SWAMINATHAN, 1999; JAY, 2005). Caracterizam-se, também, como microrganismos ambientais e, portanto, encontram-se amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados em vegetação deteriorada, solos, fezes de animais, silagem, esgotos, água, carne crua e processada, leite cru, queijos, vegetais crus e portadores assintomáticos (VÁZQUEZ- BOLAND et

al., 2001). O gênero *Listeria* inclui seis espécies: *L.monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. inócua*, *L welshimeri*, *L. grayi*, no entanto, apenas *L.monocytogenes* e *L. ivanovii* são consideradas patogênicas, a primeira normalmente relacionada com infecções em humanos e a segunda com abortos em animais (FORSYTHE, 2010).

A diferenciação das espécies do gênero *Listeria* sp. está baseada na presença de atividade hemolítica e na fermentação de açúcares como demonstrado na Tabela 1 (JEMMI;STEPHAN, 2006).

Tabela 1 – Diferenciação Bioquímica das espécies de *Listeria*.

<i>Listeria spp.</i>	<i>Hemólise</i>	<i>CAMP</i>	<i>Produção de ácido</i>		
			D-Xilose	L-Rhamnose	Manitol
<i>L.monocytogenes</i>	+	+	-	+	-
<i>L.seeligeri</i>	+	+/-	+	-	-
<i>L. ivanovii</i>	++	-	+	-	-
<i>L. innocua</i>	-	-	-	V	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	+	V	-
<i>L. grayi</i>	-	-	-	V	+

+: positivo    +/-: levemente positivo    -: negativo    V: Variável    CAMP: referência aos descobridores do fenômeno de hemólise: Christie, Atkins, Munch, Petersen.

As espécies de *Listeria* são caracterizadas por seus antígenos que determinam 17 sorovares, dos quais 13 são representados pela *L. monocytogenes*. Alguns desses antígenos são compartilhados com *L. seeligeri* e *L. innocua*, a qual é muitas vezes considerada uma variante não patogênica da *L.*

*monocytogenes*. Além disso, a *L. innocua* tem sido considerada como um indicador da contaminação da *L. monocytogenes* (AGUADO et al.,2004). Em relação aos isolados alimentares, os principais sorovares encontrados pertencem ao grupo antigênico 1/2 (1/2a, 1/2b, e 1/2c), enquanto 95% das infecções em humanos são causadas por três sorovares específicos 1/2a, 1/2b e 4b (CABRITA et al., 2004; SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT et al., 2007).

### **3.2 *Listeria monocytogenes***

É o principal agente causador de listeriose, doença grave a qual apresenta altas taxas de mortalidade. Devido a sua natureza ubíqua, ela pode ser constantemente isolada na natureza, podendo contaminar alimentos crus ou cozidos (FARBER; PETERKIN, 1991).

O microrganismo possui grande habilidade de crescer e suportar condições adversas como baixas temperaturas, pH ácido, altas concentrações de sal, processos que são utilizados pelas indústrias alimentícias para barrar o crescimento de microrganismos patógenos (GANDHI; CHKINDAS, 2007). Além disso, possui facilidade de colonização de superfícies e formação de biofilmes sobre equipamentos da indústria de alimentos e ali permanecer por longos períodos de tempo. Há relatos de sobrevivência da *L. monocytogenes* em biofilmes por períodos superiores a 10 anos (KATHARIOU, 2002; TOMPKIN, 2002; SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007).

### 3.3 Listeriose

A listeriose é considerada um sério problema de saúde pública devido à severidade dos sintomas e alta taxa de mortalidade, em torno de 30% (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007). A principal fonte de transmissão é a ingestão de alimentos contaminados. A listeriose atinge principalmente pessoas com o sistema imunológico comprometido, como grávidas, recém nascidos, idosos, diabéticos, portadores de neoplasias e da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (FARBER; PETERKIN, 1991).

A dose infectante da *L. monocytogenes*, bem como seu período de incubação não estão bem definidos, porém acredita-se que o aparecimento dos sintomas possa ocorrer de 30 a 70 dias após a ingestão de alimentos contaminados, dificultando a identificação da origem desta contaminação (LECUIT, 2007). Em relação à dose infectante, esta depende da susceptibilidade do hospedeiro e da linhagem envolvida (MCLAUCHLIN, 2004). A quantidade de microrganismos ingeridos para o desenvolvimento da listeriose pode variar de  $10^2$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônias (UFC), dependendo do estado imunológico do indivíduo (JEMMI; STEPHAN, 2006).

Os sintomas são bastante parecidos entre os indivíduos infectados. Duas formas básicas podem ser observadas: a listeriose neonatal e listeriose em adultos (VAZQUEZ-BOLAND et al., 2001). Na sua forma invasiva, a *L. monocytogenes*, adquirida através da ingestão de alimentos contaminados, é capaz de atravessar a barreira intestinal, alcançando fígado e baço, podendo multiplicar-se até altos níveis nestes órgãos. Em seguida, podem causar

bacteremia e migrar até o cérebro ou placenta, causando meningite e encefalite em indivíduos com sistema imunológico comprometido, abortos em grávidas e infecção generalizada em neonatos (ACHA & SZYFRES, 2001, CRUZ et al., 2008).

### **3.4 Tratamento da listeriose**

O tratamento de escolha para a listeriose em sua forma invasiva consiste na administração de altas doses de penicilina ou ampicilina normalmente associada a um aminoglicosídeo. Para pacientes alérgicos às penicilinas, o tratamento é realizado com sucesso, utilizando a combinação da vancomicina e um aminoglicosídeo ou sulfametoxazol-trimetropim (TMP-SMX) em associação com rifampicina. As linhagens de *L. monocytogenes* são, normalmente, resistentes as cefalosporinas, e por esse motivo não devem ser utilizadas no tratamento da listeriose (SCHLECH, 1998; SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007). Segundo estudos realizados por TROXLER et al. (2000), as linhagens de *L. monocytogenes* são naturalmente susceptíveis as penicilinas, aminoglicosídeos, trimetoprim, tetraciclina, macrolídeos e vancomicina.

### **3.5 Ocorrência de *Listeria* em Alimentos**

DEDIOL et al. (2002) ressaltaram que muitos animais são portadores de *L. monocytogenes* no trato intestinal, o que impossibilita sua total eliminação da carne crua. Este fato associado ao caráter ubíquo do patógeno e a falhas de higiene, pode possibilitar a contaminação dos alimentos.

Deste modo, os alimentos incriminados em listerioses podem ser: leite cru, carnes bovina, suína e aves, pescado, embutidos, carne moída, produtos cárneos crus e termoprocessados, entre outros (FRANCO; LANDGRAF, 1996; GERMANO; GERMANO, 2001; DEDIOL et al., 2002).

DESTRO e SERRANO (1990) advertiram para a sobrevivência do microrganismo em carnes de cordeiro, suíno e bovina moída, mantidas a 0° C, por 20 a 24 dias. Também descreveram outros produtos que possibilitaram a sobrevivência de *L. monocytogenes* como salames, embutidos, peito de frango e músculo bovino.

Em um programa realizado pelo USDA-FSIS para verificar a ocorrência de *L. monocytogenes* em carne bovina crua, no período de 1987 a 1990, o microrganismo foi isolado de 122 (7,1%) das 1.726 amostras monitoradas (RYSER; MARTH, 1991). A incidência do microrganismo em produtos cárneos também foi demonstrada por TRUSCOTT (1988) ao isolar *Listeria* spp. em 45 das 50 amostras de carnes analisadas no Canadá. Na França, LE GUILLOX et al., (1980) também demonstraram a ocorrência de *L. monocytogenes* em 4,9% das amostras avaliadas de carcaça bovina, 21,2% das amostras de carne moída e em 19,8% das amostras de carne moída congelada.

Dentre os trabalhos realizados no Brasil referentes ao isolamento de *Listeria* em alimentos, destacam-se alguns, como: a análise de 20 produtos cárneos e lácteos, nos quais foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em 65% das amostras de carne moída e 10% das amostras de queijo tipo frescal (DESTRO et al.,1992). Entre amostras originárias de 25 quartos dianteiros

bovinos, utilizados como matéria-prima para a industrialização, 24 foram positivas para *L. monocytogenes* (PICCHI et al., 1999).

De um modo geral, com a finalidade de prevenir a infecção por *L. monocytogenes*, é necessária a implementação de rígidos controles nos locais de processamento dos alimentos. A implementação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) pode ser muito importante (Brasil, 2009) para minimizar ou prevenir a contaminação por *Listeria* sp. Além disso, a realização de monitoramento dos produtos cárneos e do seu ambiente de industrialização pode contribuir com o controle das *Listeria* sp.

### **3.6 Formação de Biofilmes por *Listeria* sp.**

As superfícies comumente utilizadas para o processamento de alimentos, como polietileno, polipropileno, aço inoxidável, madeira, teflon e vidro podem permitir a colonização e o crescimento microbiano, podendo originar a formação de biofilmes, inclusive pelas *Listeria* sp.

*Listeria monocytogenes* e outras espécies de *Listeria* podem contaminar alimentos processados por meio de biofilmes em equipamentos utilizados na produção, além disso, essa bactéria pode persistir, através de biofilmes, na indústria de alimentos (LÚDEN et al., 2002; LIN et al., 2006). Diversos trabalhos relatam que as *L. monocytogenes* podem formar biofilmes sobre superfícies de materiais utilizados nas indústrias de alimentos (ZOOTTOLA, 1994; RATTI, 2006).

Na verdade, *L. monocytogenes* tem sido frequentemente encontrada em plantas de processamento de alimentos, permanecendo em lugares inacessíveis durante os procedimentos de limpeza (HOOD e ZOOTTOLA, 1995). Este microrganismo já foi isolado de canais de escoamento, reservatórios de água, superfícies que entram em contato com os alimentos (WONG, 1998; LÚDEN et al., 2000) entre outros, sendo, portanto, bastante provável a sua presença em plantas processadoras de carne.

### **3.7 Microrganismos Indicadores – Mesófilos totais**

Os mesófilos totais são microrganismos que podem se multiplicar em temperaturas entre 20°C e 45°C, porém sua temperatura ótima está entre 30°C e 40°C (JAY, 2005).

Espécies de mesófilos podem ser observadas em diversos tipos de alimentos, inclusive aqueles armazenados em temperatura de refrigeração. Nestas, aparentemente, tais microrganismos não se multiplicarão, contudo assim o farão quando esses alimentos forem colocados em temperaturas da faixa dos mesófilos e se as outras condições também forem favoráveis. Exemplos de bactérias mesófilas são: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp (JAY, 2005; MASSAGUER, 2006), entre muitos outros.

A obtenção adequada de carnes bovinas em abatedouros deve ser realizadas através de procedimentos padronizados e definidos pela legislação vigente, incluindo aspectos relacionados à higiene das instalações, equipamentos

e utensílios, além da qualidade da água utilizada nas diferentes etapas do abate (BRASIL, 1997).

Em um trabalho realizado na Austrália, por PHILLIPS et al. (2001), sobre a qualidade microbiológica de carcaças bovinas (região da cauda, flanco e peito), analisando 1.275 amostras de carcaças refrigeradas, 10,3% estavam contaminadas com *Escherichia coli*, 24,3% continham *Staphylococcus* coagulase-positivos e 0,2% das carcaças estavam contaminadas com *Salmonella* sp. COLLOBERT et al. (2002), analisando 233 carcaças bovinas, avaliaram microrganismos mesófilos anaeróbios, enterobactérias, *Staphylococcus* coagulase-positivas, coliformes fecais e *Salmonella* sp. Os resultados demonstraram populações médias de 26,3; 7,2; 1,3; 1,8 e  $6,0 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente, sendo que três carcaças estavam contaminadas por *Salmonella* sp.

A contaminação microbiana inicial da carne é resultado da introdução de microrganismos provenientes de muitas fontes como o couro, as facas de sangria, o ambiente de produção, equipamentos, manipuladores, demais partes de próprio animal, entre outras. Microrganismos mesófilos podem ser encontrados no sistema vascular quando facas não esterilizadas são utilizadas para sangria do animal (HEDRICK et al., 1994). Após a sangria e quando o animal deixa de apresentar movimentos reativos, inicia-se a esfolagem, a qual constitui em um ponto importante do abate, tendo em vista as possibilidades de contaminação da superfície das carcaças a partir de microrganismos existentes na pele, nos pêlos e cascos dos animais (LAMBERT et al., 1991). Segundo GRAU (1974), a pele

geralmente é considerada a fonte de origem da maioria das contaminações microbiológicas das carcaças, concordando com GILL et al. (1998) que afirmaram que a maioria das bactérias que contaminam as carcaças são depositadas na sua superfície durante as operações de abate, sendo que boa parte destas bactérias têm origem na pele. A microbiota normal da pele e os microrganismos do solo e fezes constituem outros contaminantes das carcaças, das quais fazem parte leveduras, membros das famílias *Bacillaceae*, *Micrococaceae*, *Enterobacteriaceae*, além de *Corynebacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* e *Listeria* sp. (GIL, 2002).

BELL (1997) demonstrou que os locais das carcaças que tiveram contato direto com contaminação fecal contida na pele, apresentaram contagem de microrganismos aeróbios igual ou superior a  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> e *E. coli* superior a  $10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>. A *Escherichia coli* é considerada como integrante da microbiota normal do intestino do ser humano e animais, geralmente não patogênica. Entretanto, algumas cepas podem produzir infecções do trato urinário, em feridas, enterites e, ocasionalmente, septicemia e meningites (VARNAN e EVANS, 1991).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Amostragem

Com o auxílio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), um abatedouro frigorífico, sob Inspeção Federal (SIF) foi selecionado. Esse estabelecimento estava localizado na região serrana do RS e foi escolhido por ser um abatedouro frigorífico exportador de carne bovina, critério esse necessário para fazer parte do estudo “Implantação de um Centro Colaborador em defesa Agropecuária para Avaliação de Riscos Microbiológicos em Produtos de Origem Animal (CDA- ARMPOA)”. Antes de cada coleta, o abatedouro frigorífico foi contatado previamente. Foram analisadas treze visitas para as coletas, que eram realizadas a cada 15 dias, em cada visita era coletada uma média de carcaças, todas as visitas foram feitas no início do abate por volta das 6h30 minutos da manhã. Foram amostradas 110 carcaças bovinas, em três pontos diferentes do processo (Ponto 1: após a sangria, ainda com a presença do couro, Ponto 2: após a retirada do couro, antes evisceração e Ponto 3: após divisão da carcaça, antes do chuveiro de toalete), perfazendo um total de 330 amostras. As coletas foram realizadas, utilizando esponjas estéreis, embebidas em 19ml de solução salina peptonada (NaCl 0,85% + Peptona de caseína 0,1%, Oxoid Ltd., Hampshire, England), armazenadas em sacos plásticos também estéreis. As carcaças foram amostradas na região do peito dos animais, seguindo normas internacionais (ANDREWS e HAMMACK, 1998). Em cada um dos três pontos do processamento foram amostradas quatro áreas de 100cm<sup>2</sup>, com auxílio de quatro esponjas estéreis, as quais foram colocadas em uma única bolsa plástica, após as

coletas. As bolsas plásticas contendo as esponjas foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA/UFRGS) para serem analisadas. No Laboratório, a cada bolsa plástica foram adicionados 200mL de solução salina peptonada estéril, sendo a mistura homogeneizada em *Stomacher* (SEWARD, New York, United States of América), previamente às análises microbiológicas.

## **4.2 Análises Microbiológicas**

### **4.2.1 Pesquisa, enumeração e caracterização de *Listeria* sp.**

A pesquisa e a enumeração de *Listeria* spp foram realizadas conforme descritas nas ISO 11290-1 e 11290-2 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2002).

Uma alíquota de 40mL da suspensão homogeneizada foi centrifugada e o sedimento suspenso em Caldo Half Fraser (Oxoid Ltd., Hampshire, England), o qual foi incubado a 20°C, por 1 hora.

Para a enumeração de *Listeria* spp. uma alíquota de 1,0mL do Caldo Half Fraser, após a incubação de 1 hora, foi semeado em superfície de placas de ágar Cromogênico Seletivo para *Listeria* (Oxoid Ltd., Hampshire, England). As placas foram incubadas a 37°C, por 48 horas. Após este período, as colônias características foram contadas e 3 a 5 dessas colônias foram selecionadas e semeadas em TSA adicionado com extrato de levedura (TSAYE, Oxoid Ltd., Hampshire, England ) e incubadas a 37°C, por 24 horas. As colônias típicas de *Listeria* sp. foram submetidas à identificação bioquímica descrita a seguir.

Para a investigação da presença de *Listeria* sp., após a incubação inicial e a retirada da alíquota para a enumeração, foi adicionado o suplemento do caldo Half Fraser, com incubação a 30<sup>o</sup>C, por 24 horas. Decorrido este período, uma alíquota de 0,1mL foi transferida para tubo contendo 10mL de caldo Fraser e incubado a 37<sup>o</sup>C, por 48 horas. Em seguida, foi realizada a semeadura em placas de ágar Cromogênico Seletivo para *Listeria* e ágar Oxford, que foram incubadas a 37<sup>o</sup>C, por 48 horas. Entre 3 e 5 colônias características foram semeadas em TSAYE e incubadas a 37<sup>o</sup>C, por 24 horas. Após a verificação de sua pureza, os isolados foram submetidos às provas bioquímicas para identificação.

Os isolados purificados oriundos da enumeração e da detecção foram submetidos às provas para a produção de catalase, motilidade e fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e produção de  $\beta$ -hemólise (MACFADDIN, 2000).

#### **4.3 Susceptibilidade a Antimicrobianos**

Para a determinação do perfil de susceptibilidade antimicrobiana, foi empregado o método de difusão em placa conforme recomendado por National Committee for Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS/CLSI, 2002<sup>a</sup>). Foram utilizados discos dos seguintes antibióticos:  $\beta$ -lactâmicos (ampicilina 10 $\mu$ g), glicopeptídeos (vancomicina 30 $\mu$ g), aminoglicosídeos (gentamicina 10 $\mu$ g), macrolídeos (eritromicina 15 $\mu$ g), tetraciclina (tetraciclina 30 $\mu$ g), quinolonas (ciprofloxacina 5 $\mu$ g) e cloranfenicol 30 $\mu$ g e carbapenêmico (imipenem 10  $\mu$ g).

Uma vez que não há padrões ou limites para os antimicrobianos as serem testados em *Listeria* sp, os limites utilizados foram aqueles estabelecidos para *Staphylococcus* sp. , conforme publicado por De Nes F et. al. (2010).

#### **4.4 Detecção e Enumeração de *Listeria* sp. no ambiente industrial**

Amostras ambientais foram coletadas em 100cm<sup>2</sup> de superfície de alguns pontos da planta de abate (paredes, ralos, mangueiras e equipamentos), onde as carcaças bovinas foram processadas. As coletas foram realizadas através de Swab Sampler, contendo 1mL de caldo Letheen (3M<sup>TM</sup>) para transporte até o Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos do ICTA/UFRGS, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Uma vez no Laboratório, foram adicionados 2mL de Água Peptonada (1%) aos tubos contendo os Swabs e caldo Letheen, os quais permaneceram à temperatura ambiente (até 25°C) durante 1 hora e, no máximo 1 hora e 30 minutos, para recuperação de bactérias estressadas. Em seguida, foram vertidos os 3mL (1mL de Caldo Letheen adicionado de 2mL de Água Peptonada 1%) sobre placas Petrifilm<sup>TM</sup> EL, que foram incubadas a 35° C, por 28 a 30 horas, antes da leitura dos resultados. Foram analisadas um total de 200 amostras, em nove visitas ao abatedouro frigorífico, permitindo o acompanhamento do histórico de prováveis melhorias implementadas.

## **4.5 Formação e Remoção de Biofilme**

### **4.5.1 Confeção e Preparação de Corpos de Prova**

Corpos de prova de polietileno e de aço inoxidável (AISI 316) foram confeccionados no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos - ICTA/UFRGS, e apresentaram as seguintes dimensões: Corpos de prova de polietileno: 2 x 2cm x 0,7cm e Corpos de prova de aço inoxidável: 7 x 2cm x 0,1cm. Previamente aos ensaios de adesão bacteriana, os corpos de prova foram imersos em solução 0,3% de detergente neutro, por 1 hora, e esfregados, sendo em seguida enxaguados com água destilada, pulverizados com álcool 70% para desinfecção e secos a 60°C. Após a higienização completa, foram autoclavados a 121°C, por 15 minutos e mantidos em recipiente hermeticamente fechado até o momento do ensaio (ROSSONI et al., 2000).

### **4.5.2 Formação dos Biofilmes Sobre os Corpos de Prova**

Uma *Listeria monocytogenes* isolada do ambiente de produção do abatedouro-frigorífico foi utilizada para a realização dos experimentos de formação e remoção de biofilmes. Colônias típicas que cresceram em meio Cromogênico para *Listeria* foram semeadas em 2mL de caldo BHI (Brian Heart Infusion, Merck) e foram incubados a 37°C, por um período de 24 horas. Um mL dessa cultura foi adicionado em 99mL de água peptonada 0,1% estéril (Casein Peptone RM 714 – Himedia®) e então utilizada para a formação de biofilmes sobre os corpos de prova. Essa suspensão bacteriana continha aproximadamente  $10^7$  UFC/mL.

Os corpos de prova de Polietileno e de aço inoxidável, esterilizados previamente, foram imersos nessa suspensão bacteriana por 15, 45, 90 e 180 minutos, em temperatura ambiente.

#### **4.5.3 Análise da Formação de Biofilme**

Os corpos de prova após permanecerem imersos nos tempos citados no item acima foram lavados com 1 mL de água destilada estéril, a fim de remover as células fracamente aderidas, em seguida foram colocados em um recipiente contendo 50mL de Água Peptonada 0,1 % estéril e imediatamente sonicados no disruptor de células ultrasônico (USC 700, UNIQUE) para que todas as células aderidas se soltassem da superfície testada (SINDE et al., 2000). Diluições seriadas decimais foram realizadas, e uma alíquota de 20µL de cada uma delas foram semeados em meio Ágar BHI (Ágar powder Bacteriological RM 026 - Himedia®; Brain Heart Infusion CM 0225 - Oxoid®), pelo método de gota (SILVA, 2007). As placas foram incubadas a 37°C, por 24h, para contagem das colônias. Cada semeadura e contagem foram realizadas em duplicata e cada experimento foi repetido pelo menos duas vezes.

#### **4.5.4 Remoção de Biofilme**

Os mesmos procedimentos descritos nos itens 4.4 e 4.5 foi realizado para obter corpos de prova com biofilmes de *Listeria monocytogenes*. Uma vez que o tempo de contato de 3 horas foi o que gerou maior número de células aderidas, esse tempo foi escolhido para a formação de biofilme sobre os corpos de prova de polietileno e aço inoxidável. Após a formação de biofilme, cada corpo

de prova foi imerso em solução de ácido peracético (Kalyclean® S 380) a 1%, hipoclorito de sódio (.Kalyclean®S 322 ) a 1% e Cloreto de Alquil Dimetil Benzil Amônio - Quaternário de Amônio (.Kalyclean®S 370) a 2%, separadamente. As concentrações de cada desinfetante foram determinadas conforme as recomendações dos fabricantes desses produtos. Os tempos de imersão testados neste estudo foram de 1 minuto e de 10 minutos.

Para controle, um corpo de prova de cada material, contendo biofilme formado, foi imerso apenas em água peptonada 0,1%, não sendo colocado em contato com os desinfetantes.

As soluções de desinfetantes foram preparadas imediatamente antes da imersão dos corpos de prova contendo os biofilmes de *L. monocytogenes*.

Após o tempo de 1 minuto e 10 minutos, respectivamente, os corpos de prova foram retirados da solução desinfetante e colocados em contato, por 3 segundos, com uma solução 0,6% de Tiosulfato de Sódio, para neutralizar a ação do ácido peracético, e de Tween 2%, para neutralizar a ação do quaternário de amônio (KICH et al., 2004; KUNIGK, 2001; JOSEPH et al., 2003, APHA, 2001). Em seguida os corpos de prova foram imersos em um recipiente com 50 mL de água peptonada 0,1% estéril e sonicados por 10 minutos no desruptor de células ultrasônico (USC 700, UNIQUE) para que as células aderidas se soltassem da superfície dos corpos de prova (SINDE et al., 2000). Os corpos de prova utilizados como controles foram submetidos aos mesmos procedimentos que os corpos de prova desinfetados.

Diluições decimais seriadas foram feitas para cada amostra sonicada, sendo que 20µL das mesmas foram semeados em meio Ágar TSA, pelo método de gota (SILVA, 2007), sendo as placas então incubadas por 24h a 37°C para a contagem das UFC/cm<sup>2</sup>. Cada semeadura e contagem foram realizadas em duplicata e cada experimento foi repetido pelo menos duas vezes.

#### **4.5.5 Remoção de Biofilme com Bacteriocina de *Bacillus* sp. P11**

O mesmo procedimento descrito nos itens 4.4 e 4.5 foram realizados para obter os corpos de prova com aderência de *Listeria monocytogenes*. Os corpos de prova com biofilmes foram imersos em solução de Bacteriocina de *Bacillus* sp. P11. Essa bacteriocina foi proveniente do sobrenadante de cultivo de *Bacillus* sp P11, o qual foi cultivado em BHI por 24 horas a 37° C. Após o período de incubação a cultura foi centrifugada a 4°C por 15 mim. a 10.000g e separado o sobrenadante das células bacterianas. O sobrenadante foi congelado a -15° C. O *Bacillus* sp. P11 foi isolado do intestino do peixe Piau-com-Pinta, da Bacia Amazônica. Essa bacteriocina demonstrou atividade antimicrobiana contra a *Listeria monocytogenes* (LEÃES; VANIN; SANT'ANNA & BRANDELLI, 2010) na concentração de 528 UA/mL. A bacteriocina foi gentilmente doada pela Química Industrial, Doutoranda Fernanda Leães, do grupo de pesquisa do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada do ICTA/UFRGS, coordenado pelo Professor Adriano Brandelli A Bacteriocina foi preparada em duas diluições, 1:2 e 1:10, conforme orientação do grupo de pesquisa que forneceu a mesma. Os tempos de imersão testados neste estudo foram de 1 minuto e de 10 minutos.

Para controle, um corpo de prova de cada material não foi colocado em contato com a bacteriocina.

As diluições da Bacteriocina, foram realizadas imediatamente antes de colocar os corpos de prova em imersão. Após o tempo de 1 minuto e 10 minutos respectivamente, os corpos de prova foram retirados da solução e colocados em uma solução neutralizadora de Tween 2%, por 3 segundos, para que a ação da bacteriocina fosse interrompida. Em seguida os corpos de prova foram imersos em recipiente com 50mL de água peptonada 0,1% e sonicados por 10 minutos no desruptor de células ultrasônico (USC 700, UNIQUE) para que as células aderidas se soltem da superfície testada (SINDE et al., 2000). Diluições decimais seriadas foram realizadas para cada amostra sonicada, sendo que 20 $\mu$ L das mesmas foram semeados em meio Ágar TSA, pelo método de gota (SILVA, 2007) e então incubados por 24h a 37°C para a contagem das UFC/cm<sup>2</sup>. Cada contagem foi realizada em duplicata e cada experimento foi repetido pelo menos duas vezes, repetindo este mesmo procedimento também com os corpos de prova controle.

#### **4.6 Enumeração de Microrganismos Mesófilos Totais nas Carcaças Bovinas**

As populações de microrganismos mesófilos totais foram quantificadas em cada ponto um dos três pontos de cada amostra de carcaça bovina, através de placas Petrifilm para contagens de aeróbios (3M). No Ponto 1 as diluições foram de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-4</sup>, e nos Pontos 2 e 3 as diluições foram de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup>. Essa diferença de diluição entre os Ponto 1 com os Pontos 2 e 3, se deu porque no Ponto 1 o

animal ainda estava com o couro, havendo uma contaminação maior. Todas as diluições foram plaqueadas incubadas a 37°C por 48 horas.

As contagens de mesófilos totais foram correlacionadas com os resultados de *Listeria* sp.

Os resultados obtidos no presente Projeto foram enviados para Universidade de São Paulo (USP), a fim de serem agrupados com os resultados dos demais Laboratórios envolvidos no Projeto “Implantação de um Centro Colaborador em defesa Agropecuária para Avaliação de riscos Microbiológicos em produtos de origem animal (CDA- ARMPOA)”, Coordenado pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Bernardete D. G. M. Franco. Os resultados relativos à pesquisa e enumeração de *Listeria* sp. foram enviados à empresa 3M do Brasil, para análise crítica dos resultados, e avaliação das placas Petrifilm para *Listeria* sp.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 *Listeria* sp. em carcaças bovinas

Das 110 carcaças bovinas analisadas, 12 (10,90%) foram positivas para o gênero *Listeria*, distribuídos nas seguintes espécies: *Listeria innocua* 7 (6,36%), 4 *Listeria monocytogenes* (3,63%) e 1 *Listeria* sp. (0,90%). Todas as *Listeria* sp. foram isoladas no Ponto 1, quando os animais ainda estavam com couro. O fato de nenhuma *Listeria* sp. ter sido isolada nos pontos 2 e 3, sugere que a retirada do couro foi realizada de forma correta e que o abatedouro-frigorífico realizou procedimentos adequados de BPF.

Em relação aos métodos adotados para o isolamento de *Listeria* sp., observou-se que todos os isolados de *L. innocua* e de *L. monocytogenes* foram recuperados em ambos os meios de cultura utilizados, isto é meio Oxford e Ágar Cromogênico.

Na metodologia de enumeração, *Listeria* sp. não foi constatada, apenas colônias semelhantes as de *Listeria*, as quais foram identificadas como sendo de leveduras e *Enterococcus* spp. (colônias puntiformes, azuladas devido à produção da enzima Beta-D-glucosidase) (STESSL et al., 2009) Nesse método de quantificação, as amostras foram submetidas a uma etapa de recuperação celular por apenas 1 hora em caldo half-fraser, sem suplementação. É possível que esse resultado tenha sido alcançado devido ao baixo número de colônias de *Listeria* sp. realmente presentes na superfície das carcaças, as quais não foram detectadas pelo método, e/ou devido a influência da microbiota acompanhante, que pode ter interferido no desenvolvimento de colônias de *Listeria* sp no meio ágar

Cromogênico. Nesse sentido, a utilização de uma etapa de crescimento em meio líquido seletivo, por mais de 1 hora, como é realizado no método qualitativo, pode favorecer o aumento da população de *Listeria* sp. em relação aos contaminantes e permitir o desenvolvimento e visualização de colônias de *Listeria* sp. no meio sólido seletivo diferencial. A semeadura direta em ágar Cromogênico, sem ser precedida dessa etapa de enriquecimento pode não permitir o isolamento de *Listeria*, o que já foi proposto por outros autores (VLAEMYNCK et al., 2000; STESSL et al., 2009).

*L. monocytogenes* é a espécie de *Listeria* investigada no âmbito da inocuidade dos alimentos. Entretanto, a presença de outras espécies de *Listeria* pode ser interpretada como um indicativo de condições adequadas para a presença da espécie patogênica (VITAS et al., 2004), portanto seu isolamento deve ser considerado um risco no ambiente de frigoríficos e nas carcaças.

Dos quatro isolados de *L. monocytogenes*, três foram classificados como sorotipo 1/2a e um como *L. monocytogenes* rugosa. Os sorotipos 1/2a, 1/2b e 1/2c são os mais encontrados em produtos cárneos e no ambiente de abate (THEVENOT et al., 2006; SWAMINATHAN & GERBER-SCHMIDT, 2007; GIANFRANCESCHI et al., 2009).

## **5.2 *Listeria* sp.no ambiente industrial**

Entre as 200 amostras analisadas, 25 (15,5%) apresentaram colônias típicas de *Listeria* sp., sendo apenas uma identificada como *L. monocytogenes* sorotipo 4b. As demais amostras foram identificadas como *L. innocua*. Dentre as

amostras positivas, 14 foram coletadas em ralos, sendo 13 *L. innocua* e uma *L. monocytogenes*, representando 56% do total de amostras positivas coletadas no abatedouro frigorífico. Amostras positivas dos ralos foram coletadas em cinco das sete visitas ao frigorífico (Tabela 2), sugerindo que os mesmos são fontes expressivas de *Listeria* sp. e a sua higienização deve ser enfatizada.

Outras quatro amostras positivas (*L. innocua*) foram encontradas em cubas de descarte, representando 20% do total de amostras coletadas; e duas em uma mesa de evisceração, representando 8%. Além disso, foram encontradas uma amostra positiva no bucal da saída em uma mangueira, uma em uma parede, uma em uma serra, uma em uma faca, representando 4%, 4%, 4% 4% respectivamente do total de amostras positivas para *L. innocua*.

As contagens de colônias típicas de *Listeria* sp. nos ralos variaram desde uma Unidade Formadora de Colônia (UFC), até valores superiores a 100UFC/cm<sup>2</sup> (valores incontáveis, segundo informações do fabricante), sendo que quantidades semelhantes também foram encontradas no bucal da uma mangueira e em algumas cubas de descarte.

Um fato interessante é que na primeira coleta (09/11/2009), todas as amostras de ralo apresentaram colônias típicas de *Listeria* sp. Cerca de dois meses depois, no dia 25/01/2010, amostras de ralos também foram positivas para *L. innocua* (n=2) e *L. monocytogenes* (n=1), assim como foi detectada *L. monocytogenes* em três carcaças. Do mesmo modo, no dia 29/03/2010, duas entre três amostras de ralos foram positivas para *L. innocua*, assim como uma carcaça bovina. Esses resultados sugerem que a presença de *Listeria* sp. no

ambiente industrial pode levar a contaminação de produtos em processamento ou que matérias-primas contaminadas podem contaminar o ambiente industrial. De qualquer forma, a higienização rigorosa do ambiente de abatedouros-frigoríficos deve fazer parte de medidas de controle para prevenir as *Listeria* sp. e *L. monocytogenes*.

Amostras positivas para *L. innocua* da parede, de três cubas, de um “chutts” (escorregador) e da serra foram coletadas no dia 08/02/2010, quando visivelmente havia maior número de resíduos no ambiente de processamento do abatedouro frigorífico. No dia 29/03/2010, uma amostra positiva para *L. innocua* foi coletada de uma faca. A contaminação de utensílios como facas e serras é preocupante, uma vez que eles entram em contato direto com as carcaças. Além disso, a presença desse organismo nesses utensílios foi um fato curioso porque eles foram higienizados a cada carcaça processada, conforme procedimentos preconizados pelo MAPA.

No dia 25/01/2010, uma amostra do bucal da mangueira foi positiva para *L. innocua*, contudo esse microrganismo não foi encontrado em demais partes da mangueira, nas coletas realizadas. Isso pode ser explicado pelo fato dela encontrar-se frequentemente enrolada em seu suporte, ficando apenas o bucal da mesma, às vezes, em contato com o chão. Enfatizando a necessidade desse tipo de cuidado, em 2007, ocorreu um surto de listeriose em Massachusetts, EUA, envolvendo cinco pessoas com três óbitos. A cepa de *L. monocytogenes* que causou o surto foi encontrada em um ralo do laticínio envolvido, e as mangueiras utilizadas para higienização do ambiente da indústria

foram identificadas como uma provável fonte da contaminação (CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2008).

Duas amostras coletadas de mesas de evisceração apresentaram *L. innocua*. Essas mesas eram do tipo rolante, sendo movimentadas por diversos locais do abatedouro frigorífico, o que pode ter propiciado a contaminação por esse microrganismo.

As amostras positivas (n=5) encontradas nas cubas de descarte podem ser explicadas pelo fato delas estarem em contato com resíduos passíveis de estarem fortemente contaminados, como pedaços de intestino contaminado por fezes, pedaços de carne contaminados por bile ou sujidades aparentes.

No abatedouro estudado, pôde-se perceber que as duas serras utilizadas ficavam em locais diferentes, provavelmente justificando a contaminação da serra 1 e a não contaminação da serra 2 por *L. innocua*. A serra 1 estava situada no início da linha de abate, onde as carcaças ainda apresentavam couro e, portanto, maior contaminação. Já a serra 2 estava situada no final da linha de abate, sendo utilizada apenas para dividir as carcaças limpas.

Mesmo que diversos estudos apontem a ocorrência de *Listeria* sp. em ambientes de produção de abatedouros frigoríficos ou produtos cárneos (SLADE, 1992; PICCHI et al., 1999; SUIHKO et al., 2002; PECCIO et al., 2003; BARBALHO et al., 2005; BARROS et al., 2004; GUDBJÖRNSDÓTTIR et al., 2004), a presença das *Listeria* sp. encontradas no presente estudo é motivo de preocupação e merece ações corretivas eficazes.

Tabela 2 - Amostras positivas de *Listeria* sp. coletadas em ambiente de processamento de um abatedouro frigorífico exportador de bovinos no Rio Grande do Sul.

Ponto de Coleta	Número de visitas* com amostras positivas	Amostras positivas para <i>Listeria</i> sp.	Porcentagem por ponto de coleta de amostras positivas (%)	Porcentagem de amostras positivas entre o total de amostras coletadas (%)
Ralos	5	14	56	7
Cubas de Descarte	2	5	20	2,5
Boca da Mangueira	1	1	4	0,5
Serra	1	1	4	0,5
Parede	1	1	4	0,5
Faca	1	1	4	0,5
Mesa de Eviscerção	1	2	8	1
Total	-	25	100%	-

\* Total de nove visitas

### 5.3 Resistência das *L. monocytogenes* aos antimicrobianos

As *L. monocytogenes* isoladas (n=5, 4 de carcaças e 1 de ralo) foram submetidas a antibiograma contra oito antimicrobianos. Os resultados demonstraram que todos os isolados foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados.

De forma geral, o gênero *Listeria* apresenta susceptibilidade aos antimicrobianos (AURELI et al., 2003). Corroborando esses fatos, MARTINEZ et

al. (2001) demonstraram que *L. monocytogenes* isoladas de amostras clínicas foram sensíveis à penicilina, ampicilina, aminoglicosídeos, eritromicina e tetraciclina. PAGOTTO et al. (2006) verificaram, ao testar a suscetibilidade de *L. monocytogenes* frente a ampicilina, gentamicina, tetraciclina, ciprofloxacina e eritromicina, que o tratamento para listeriose pode ser realizado através da associação entre ampicilina e gentamicina. No entanto, RANG et al. (2001) indicaram que o tratamento de listeriose deve ser realizado com amoxicilina e eritromicina como antibióticos de primeira e segunda escolha, respectivamente. Para o tratamento de bacteremia em gestantes com listeriose, indica-se a vancomicina e a eritromicina, respectivamente (WHITE et al., 2002). A alta taxa de sensibilidade das cepas de *L. monocytogenes* isoladas no presente estudo e nos demais trabalhos acima citados demonstra uma situação menos preocupante em relação aos perfis de resistência encontrados em outras bactérias transmitidas por alimentos, como por exemplo a *Salmonella Typhimurium* DT 104 ou alguns *Staphylococcus aureus*. Entretanto, cepas resistentes de *L. monocytogenes* já foram identificadas em outros estudos, como por exemplo: CHIARINI (2007) testou 210 cepas *L. monocytogenes*, identificando cinco isolados provenientes de superfície e de afiador de faca, resistentes à eritromicina e ao cloranfenicol. Cento e vinte e sete isolados apresentaram também resistência à clindamicina e um à ciprofloxacina.

#### **5.4 Contaminação das carcaças por microrganismos mesófilos totais**

Os resultados das contagens de mesófilos demonstraram uma variação nos pontos de coleta, onde o Ponto 1 foi o mais contaminado. As médias gerais das contagens nos Pontos 1, 2 e 3 foram  $6,3 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>;  $4,9 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> e  $3,8 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Esses resultados já eram esperados, pois no Ponto 1 os animais ainda apresentavam o couro, o qual é naturalmente contaminado.

Ainda em relação ao Ponto 1, percebeu-se que no banho dado nos animais antes do abate havia uma concentração de cloro irregular na água. Como exemplo disso, em duas coletas foi verificada a concentração de 5 ppm, enquanto nas outras 11 coletas a concentração do cloro variou entre zero e 4,33 ppm. Apesar da variação nas concentrações de cloro, as contagens totais permaneceram razoavelmente similares.

GILL (2004) observou que a lavagem dos animais antes do abate reduz a contaminação da pele. Dependendo das condições em que ela se encontra influenciará na transferência de microrganismos para a carne.

Com relação a contagem de microrganismos mesófilos totais e a contaminação por *Listeria* sp. houve uma aparente correlação entre elas, haja vista que quando foi encontrada *L. innocua*, sorotipo 6a e 6b as contagens de mesófilos totais nas carcaças estavam altas, em média de  $6,5 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>. MESQUITA (1991) analisou 70 amostras de carne bovina, obtidas em matadouro frigorífico sob inspeção federal e isolou bactérias do gênero *Listeria*. Dessas, 30

amostras foram originárias da água de resíduos e foram positivas para *L. innocua* 6a.

PHILLIPS et al. (2001) analisaram 1.275 amostras de carcaças bovinas em diferentes estabelecimentos e encontraram valores médios de 2,6 log UFC/cm<sup>2</sup> para contagem total de mesófilos nas carcaças após refrigeração. HANSSON (2001) após análise de 200 carcaças bovinas, em frigoríficos de alta e baixa capacidade de abate encontrou valores médios de mesófilos de 3,8 x 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup> nas plantas de alta capacidade e 2,7 x 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup> nas de baixa capacidade. COLLOBERT et al. (2002) analisando 233 carcaças bovinas isolaram mesófilos em populações médias de 6,0 x10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup>. BETANCOURT et al. (2004) demonstraram que a prevalência de patógenos na pele bovina entre um estabelecimento A e um estabelecimento B foi de 55,9% para *E. coli* O157:H7 e 50,3% para *Salmonella*, sendo considerada alta, enquanto que a prevalência de *Listeria* sp. foi de 37,7% para o estabelecimento A e de 75,5% para o B e *L. monocytogenes* foi de 0,8% para o estabelecimento A e de 18,7% para o B, esta considerada mais baixa. *L. monocytogenes* tem sido identificada como um sério problema relacionado aos alimentos (TAUXE, 1997) e foi demonstrada em carcaças bovinas, sendo associada com a pele animal, trato intestinal de animais sadios e meio ambiente (KORSAK et al., 1998). De acordo com BLACKMAN & FRANK (1996) a *L. monocytogenes* demonstrou capacidade para se estabelecer e formar biofilmes nos diferentes tipos de superfícies que compõem as plantas de processamento.

## 5.5 Formação e remoção de Biofilme

A formação de biofilme por *L. monocytogenes* nos corpos de prova foi considerada quando as contagens indicaram números maiores ou iguais a  $10^3$  UFC aderidas por  $\text{cm}^2$  ( $3,0 \log$  de UFC/ $\text{cm}^2$ ) na lâmina de Polietileno e de Aço Inoxidável. Esses resultados estão de acordo com o trabalho citado por WIRTANEN et al. (1996) e RATTI (2006). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para determinar as diferenças significativas, sendo que foram consideradas diferenças significativas quando  $P > 0,05$ .

Em relação à formação de Biofilme e aos tempos testados, o presente estudo demonstrou que a adesão bacteriana, em relação ao polietileno não teve uma diferença significativa, apresentando uma população de  $3,8 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$  em 15 minutos;  $3,9 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$  em 45 minutos;  $4,09 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$  em 90 minutos e uma população de  $4,13 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$  em 180 minutos. Enquanto no aço inoxidável a população bacteriana aderida foi de  $2,8 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$ , em 15 minutos;  $3,04 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$ , em 45 minutos;  $3,38 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$ , em 90 minutos e de  $3,42 \log$  UFC/ $\text{cm}^2$ , em 180 minutos. Em ambos os materiais não foi observada uma diferença significativa das células aderidas ( $P < 0,05$ ) nos diferentes tempos de contato. A adesão ocorreu desde os primeiros 15 minutos no Polietileno, pois a contagem de microrganismos, no tempo de 15 minutos, no aço inoxidável foi abaixo da linha de corte estipulada. TONDO et al., (2010) demonstraram que a formação de biofilme por *S. Bredeney*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*, tanto no polietileno quanto no aço inoxidável, foram iguais no tempo de 15 minutos, não havendo diferença entre os demais tempos testados de 30 e 60 minutos. As

contagens de células aderidas em ambos materiais foram superiores aquelas demonstradas no presente estudo, uma vez que alcançaram quantidades acima de 5,0 log UFC/cm<sup>2</sup>.

No presente estudo, os biofilmes formados com a cepa de *Listeria monocytogenes* em polietileno e aço inoxidável, após 3 horas de incubação, foram submetidos a tratamento com diferentes desinfetantes, Hipoclorito de sódio, Ácido Peracético e Cloreto de Alqueil dimetil Benzil Amônio, por 1 minuto e 10 minutos. Após 1 minuto, os desinfetantes foram capazes de eliminar todo o biofilme formado de *L. monocytogenes* no polietileno e no aço inoxidável.

SOMERS e WONG (2004) analisaram a capacidade de alguns desinfetantes, como o hipoclorito sódio, ácido peracético e compostos derivados de quaternário de amônio para inativar biofilmes de *L.monocytogenes*. Os resultados demonstraram que o hipoclorito sódio eliminou a população de *L. monocytogenes* no biofilme, enquanto os outros desinfetantes não. Em relação à bacteriocina testada, a remoção completa do biofilme, ou seja de 4,13 log UFC/cm<sup>2</sup> para zero se deu em 10 minutos, tanto na concentração 1:2 quanto na concentração 1:10 no polietileno. A remoção completa do biofilme, ou seja, sem crescimento bacteriano, no aço inoxidável ocorreu com a diluição 1:2 e 1:10, em 1 minuto. FONTANA et al. (2006), demonstraram que a bacteriocina Pep5 foi capaz de diminuir as contagens de biofilmes formados por *S. aureus* e *S. epidermitis* isolados de cateteres. Essa bacteriocina foi testada, tanto como inibidora quanto removedora de biofilmes, mostrando uma eficaz capacidade de diminuição da formação e da remoção do biofilme (0,98 e 0,92 log, respectivamente). Esses

resultados corroboram aqueles obtidos no presente estudo, pois a bacteriocina P11, também apresentou uma capacidade de remoção do biofilme formado por *L. monocytogenes* no aço inoxidável, nos tempos de 1 e 10 minutos, nas diluições de 1:2 e 1:10. Porém a bacteriocina P11 teve uma capacidade de diminuição de contagens no polietileno, no tempo de 1 minuto em ambas as diluições, já no tempo de 10 minutos, a remoção foi total, nas duas diluições. Esses resultados demonstram que para cada tipo de material há um tempo e uma diluição ideal para a eliminação de biofilmes de *L. monocytogenes* por bacteriocinas. Mesmo assim, essa pode ser mais uma excelente aplicação de bacteriocinas em indústrias de alimento

## 6 CONCLUSÃO

Microrganismos do gênero *Listeria* puderam ser encontrados no ambiente de matadouro frigorífico exportador, bem como contaminando a superfície de carcaças bovina em linhas de abate. A frequência do isolamento demonstrou ser mais elevada nos dias em que as contagens de microrganismos mesófilos totais também foram mais elevadas, sugerindo uma co-relação entre elas. Além disso, pôde-se perceber que *L. monocytogenes*, apesar de ter a capacidade de formar biofilme pôde ser removida com o uso de desinfetantes encontrados no mercado. Além disso, a Bacteriocina P11 apresentou capacidade de remoção de biofilme formado por *L. monocytogenes* sobre aço inoxidável e polietileno. Essa pode ser mais uma utilidade de bacteriocinas nas indústrias de alimentos, desde que as autorizações legais para isso sejam possíveis.

## 7 BIBLIOGRAFIA

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis Y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3 ed. Washington: Organización Panamericana de Saúde (OPS), 2001.

AGUADO, V.; VITAS, A.I.; GARCÍA-JALÓN, i. **Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by FPD and REA**. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v.90, p.341-347, 2004

ANDREWS, W.; HAMMACK, T.S. **Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate**. In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Bacteriological Analytical Manual. 8.ed. Gaithersburg: AOAC International, 1998 cap.1.

APHA, **Compendium of Methods for the Microbiological Examinations of Foods**, American Public Health Association, 4<sup>a</sup> ed, Washington DC: Frances Pouch Downes and Keith Ito, 2001, 600p.

AURELI P.; *et al.* **An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes***. New England Journal of Medicine 2000; 342: 1236–1241.

BARBALHO.; *et. al.* **Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies**. Food Control, v.16, p. 211-216, 2005.

BARROS.; *et al.* ***Listeria* spp.: ocorrência em equipamentos e ambientes de processamento de carne bovina**. Semana: Ciências Agrárias, Londrina, v. 25, n.4, p. 341-348, 2004

BELL, R.G. **Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses**. Journal of Applied microbiology, v.82, p.292-300, 1997.

BETANCOURT.; *et al.* **Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in twogeographically distant commercial beef processing plants in the United States**. Journal of Food Protection., v.67, n.2, p.295-302, 2004.

BILLE, J; ROCOURT, J; SWAMINATHAN, B. ***Listeria*, *Erysioelothrix*, and *Kurthia***. In: MURRAY, P. et al., (Ed.). Manual Of Clinical Microbiology. 7.ed. Washington: American Society For Microbiology, 1999. Cap.22, 346-352.

BLACKMAN, I.C.; & FRANK, J.F. **Growth of *Listeria monocytogenes* as a biofilm on various food-processing surfaces**. Journal of Food Protection, v. 59, p. 827-831, 1996.

BORGES, M.F. et al., ***Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos de Agroindústria Tropical**. Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 119, p.31, 2009

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n.30.691. 29 de mar. 1952, alterado pelos Decretos n.1255. 25 jun. 1962, n.1236. 02 set. 1994, n.1812. 08 fev. 1996, n.2244. 04 jun. 1997. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília: Ministério da Agricultura, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, 1997. 241p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

**Instrução Normativa nº9, de 8 de abril de 2009**. Institui os procedimentos de controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para consumo.

CABRITA.; *et al.* **Genetic characterization of *Listeria monocytogenes* food isolates and pathogenic potential within serovars 1/2a and 1/2b**. Systematic applied Microbiology, Stuttgart, v.27, p. 454-461, 2004.

CDC - Center for Disease Control and Prevention – USA. **Outbreak of *Listeria monocytogenes* Infection associated with Pasteurized Milk from a local dairy – Massachusetts, 2007**. Disponível em : <http://jama.ama-assn.org/content/301/8/820.full.pdf+html>. Acesso em 01/10/2010

CHIARINI, Eb. ***Listeria monocytogenes* em matadouros de aves: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação**. 2007. 146 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Dos Alimentos Área de Bromatologia, Faculdade de Ciência Farmacêuticas, São Paulo, 2007.

COLLOBERT.; *et al.* **Qualité bactériologique de surface de carcasses de bovines**. Sciences des Aliments., v.22, p.327-334, 2002

CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B.; DESTRO, M. T. ***Listeria monocytogenes*: Um agente infeccioso ainda pouco conhecido no Brasil**. Alim. Nutr., Araraquara v.19, n.2, p. 195-206, abr./jun. 2008

DE NES, F.; *et al.* **Molecular analysis on *Listeria monocytogenes* in dairy products** Rev Soc Bras Med 43(4):382-385, jul-ago, 2010.

DEDIOL,C.; *et al.*, **Incidência de *Listeria monocytogenes* en Carne Vacuna Fresca en el área Del Gran Mendonza** . Higiene Alimentar, São Paulo, v.16, .102/103, p.13-16, nov/dez, 2002

- DESTRO, M.T; SERRANO, A. M. **Listeria spp. em Alimentos**. Boletim SBCTA. Campinas, v.24, n.1/2, p.13-37, jan/jun, 1990.
- DESTRO, M.T; SERRANO, A.M.; KABUKI, D.Y. **Comparsion of Two Plating Media for the isolation of Listeria spp.** From some Brazilian Dairy and meats products. Revista de Microbiologia. V. 52, n.4, p. 689-695. 1992
- FARBER, J.M; PETERKIN, P.I. **Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen**. Microbiological Reviews, Washington, v.55, n.3, p.476-511, 1991
- FELÍCIO, P.E. de. **Desdobramento da Função Qualidade da Carne Bovina. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n.54, p.16-22, 1998.
- FONTANA, M.B.C.; BASTOS, M.do C.F.; BRANDELLI, A. **Bacteriocins Pep5 and Epidermin Inhibit Staphylococcus epidermidis Adhesion to Catheters** Current Microbiology ,v.52, p. 350–353,2006
- FORSYTHE, S.J.**The Microbiology of Safe Food**. United Kingdon, Wiley-Blackwell, 2ºEd, 496p,2010
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, cap. 4, p.33-82, 182p.
- GANDHI, M.; CHIKINDAS, M.L. **Listeria: A foodborne pathogen that Knows how to survive**. International Journal of Food Microbiology, Amsterdan, v. 113, p.1-15, 2007
- GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela.2001, 629p., parte 12, p.217-227.
- GIANFRANCESCHI, M. V.; *et al.* **Distribution of serotypes and pulsotypes of Listeria monocytogenes from human, food and environmental isolates (Italy 2002–2005)**. Food Microbiology 26 (2009) 520–526
- GILL, C.O. **Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs**. In: The Microbiology of Meat and Poultry, eds. DAVIES, A.; BOARD, R. Blackie Academic and Professional, London, p. 118-157, 1998
- GILL, J.I. **Manual de Inspeção Sanitária de carnes**. 2ed. Portugal: Fundação Caloust Gulbenkian, 2002, p. 485.
- GILL, C.O. **Visible Contamination on Animals and Carcasses and the Microbiological Condition of meat**. Journal of Food Protection, v.67, n. 2, p.413-419, 2004.

GRAU, F.H. **Microbiology of unpacked meat**. Advances in Meat Science and Technology. CSIRO (Australia), 1974.

GUDBJÖRNSDÓTTIR, B.; *et al.*. **The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries**. Food Microbiology, n. 21 p. 217-225, 2004.

HEDRICK.; *et al.* **Principles of meat science**. 3th ed. Iowa: Kendall/Hunt Publishing Company, 1994. cap. 8, p.173-174.

HOOD, S.K.; ZOTTOLA, E.A. **Biofilms in food processing**. Food Control, Guildford, v.6, nº1, p.9-18, 1995

INTERLAB. Internews Industrial. **Listeria- Um inimigo silencioso**. Ano II, n.3, 1 sem. 2002. Disponível em: [www.interladist.com.br/ind\\_htm/internws\\_ind\\_3.htm](http://www.interladist.com.br/ind_htm/internws_ind_3.htm)

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, ISO 11290-1 e 11290-2. **Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes***, 2002

JAY, J. M. **Listerioses de origem animal**. In. Microbiologia de alimentos. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 25, p. 517-542, 711.

JEMMI, T.; STEPHAN, R. ***Listeria monocytogenes*: food- borne pathogen and hygiene indicator**. Revué Scientifique et Technique Officw International des Epizooties, Paris, v.25, n.2, p.571-580, 2006

JOSEPH, B.; OTTA, S.K.; KARUNASAGAR, I.; KARUNASAGAR, I. **Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers**. International Journal of Food Microbiology, v. 64, p. 367-372, 2001.

KASNOWSKI, M.C. ***Listeria* spp. *Escherichia coli*: Isolamento , Identificação, Estudo sorológico e antimicrobianos em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída**. 2004, 111fl Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Veterinária, Niterói/RJ.

KATHARIOU, S. ***Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity a Food Safety perspective**. Journal of food protection, Des Moines v.65, p.811-1829, 2002

KICH, J.D.; MORES, N.; PIFFER, I. A.. *et al.* **Fatores associados à soroprevalência de *Salmonella* em rebanhos comerciais de suínos**. Ciência Rural, v.35, n.2, p.398-405, 2005

KUNIGK, L.; ALMEIDA, M. C. B. **Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces.** Brazilian Journal of Microbiology. São Paulo, v.32, p 38-41, jan 2001.

LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DODDS, K. L. **Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat: A review.** Food Microbial., v.8, n.4, p.267-97, 1991.

LEAES, F.L.; VANIN, N.G.; SANT'ANNA, V.; BRANDELLI, A. **Use of Byproducts of Food Industry for Production Of Antimicrobial Activity by *Bacillus* sp.** P11. Food Bioprocess Technol, 2010

LECUIT, M. **Human listeriosis and animal models.** Microbes and Infection, Paris, v.9, p.1216-1225, 2007

LE GUILLOX, M.; DOLLINGER, C I.; FREYBURGER, G. ***Listeria monocytogenes* – Sa frequence DNAs les produits de charcuterie.** Bull. Soc. Vet. Prat. France, V. 64, n.1, p. 45 – 53, 1980

LOVETT, J. **Isolation and Enumeration of *Listeria monocytogenes*.** Food Technology, v.42, n.52, p. 172-175. 1988.

LOW, J.C; DONACHE, W. **A Revuwe of *Listeria monocytogenes* and listeriosis.** Veterinary Journal, London, v.153, p.9-29, 1997

LUNDÉN, J. M.; AUTIO, T. J.; KORKEALA, H.J. **Transfer of persistent *Listeria monocytogenes* contamination between food- processing plants associated with a dicing machine.** Journal of Food Protection ,v.65,p. 1129- 1133, 2002.

MaCFADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria.** 3. ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins. Cap. 43, p. 544-545, 2000.

MARTINEZ-MARTINEZ, L.; *et al.* **Activities of gemifloxacin and five other antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* and coryneform bacteria isolated from clinical samples.** Antimicrob Agents Chemother. V45, 2390-2392, 2001.

MASSAGUER, de P.R, **Microbiologia dos Processos Alimentares**, 1ª Ed. São Paulo, Varela. P258, 2005

MCLAUCHLIN, J.; MITCHELL, R. T.; SMERDON, W. J.; JEWELL, K. ***Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v.92, p.15-33, 2004

MESQUITA, A.J. **Bactérias do gênero *Listeria* em carne e água residuária da lavagem de carcaça de um matadouro frigorífico e em carne moída bovina comercializada na cidade de Goiânia.** 1991, 142p. Tese (Doutorado em Microbiologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1991

Ministério da Agricultura, 2008 [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acesso em: 10/12/2010

MONTEVILLE, T.J.; MATTHEWS, K.R. **Food Microbiology an Introduction**, 2<sup>nd</sup> ed: Washington, DC, Asm Press, 2008.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS INTERNATIONAL/CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Twelfth Informational supplemente.(2002). CLSI/NCCLS document M100 - S12. CLSI, Wayne, PA, USA, 2002..

NASCIMENTO, M.G.F.; CULLOR, J.S. Listeriose Humana – **Epidemiologia e Fontes de Contaminação** . Higiene Alimentar, v.8, n. 32, p. 13-17, jul.1994

PAGOTTO, F.; CORNEAU, N.; FARBER, J. ***Listeria monocytogenes* infections** in: RIEMANN, H.; CLIVER, D., eds. **FOOD-borne infections and intoxications**. 3 ed. New York, London: Academic Press, 2006. cap 9, p 313-340.

PECCIO, A.; AUTIO, T.; KORKEALA, H.; ROSMINI, R.; TREVISANI, M. ***Listeria monocytogenes* occurrence and characterization in meat-producing plants**. Letters in Applied Microbiology, v.37, p. 234-238, 2003.

PHILLIPS, D.; SUMNER, J.; ALEXANDER, J.F.; DUTTON, K.M. **Microbiological quality of Australian beef**. Journal of Food Protection, v.64, n.5, p.692-696, 2001.

PICCHI, V.; RAMOS SILVA, E.O.T.; SOUZA, S.L.P.; BALIAN, S.C. **Isolamento e identificação de *Listeria* spp., em quartos dianteiros de bovinos desossados**. Higiene Alimentar, v.13, n.63, p.38-42, 1999.

RANG, H. P.; *et al.* **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p 703.

RATTI, R.P. ***Listeria mmonocytogenes* em alimentos fatiados e equipamentos; Ocorrência, formação de biofilme e controle**. Dissertação de Mestrado, Biciências, Ribeirão Preto, USP, p.96, 2006

ROSSONI, E. M. M.; GAYLARDE, C. C. **Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitizing agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy**. International Journal of Food Microbiology, Brasil, v. 61, n. 1, p. 81-85, 2000

RYSER, E.T.; MARTH, E.H. In: ***Listeria*, listeriosis and food safety. Incidence and Behavior of *Listeria monocytogenes* in meat products**. New York. 1991.632p. ,cap. 11, p. 405-462.

SCHLECH, W.F. **Foodborne listeriosis**. Clinical Infection Diserase, Boston, v.31, p. 770-775, 1998

SILVA, N. V. C. A.; *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3ª Ed. São Paulo, Varela. P. 552, 2007.

SINDE, E.; CARBALLO,J. **Attachment of *Salmonella* sp. And *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers**. Food Microbiology, Espanha, v. 17, n. 4, p. 439-447, 2000.

SLADE, P.J. **Monitoring *Listeria* in the food production environment. I. Detection of *Listeria* in processing plants and isolation methodology**. Food Research International, v. 25, p. 45-56, 1992.

SOMMERS , E.B; WONG, A.C.L; **Efficacy of two cleaning and sanitizing combinations on *Listeria monocytogenes* biofilms formed at low temperatures on a variety of materials in the presence of ready –to-eat meat residues**. Journal of Food Protection , v.67, nº. 10, p.2218-2229, 2004

STESSL, B. *et al.* **Performance testing of six chromogenic ALOA-type media for the detection of *Listeria monocytogenes***. Journal Of Applied Microbiology, Vienna, Austria, p. 651-659, 2009.

SUIHKO, M.L.; SATU, S.; NICLASSEN, O. **Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from the meat, poultry and seafood industries by automated ribotyping**. International Journal of Food Microbiology, v.72, p.137-146, 2002.

SWAMINATHAN,B.; GERNER-SMIDT,P. **The epidemiology of human listeriosis**. Microbes and Infection, Paris, v.9, p.1236-1243, 2007

TAUXE, R.V. **Emerging food borne diseases: an evolving public health challenge**.Emerg. Inf. Dis., v.3, p.425-434, 1997.

THEVENOT, D.; DERBURG, A.; VERNZOY-ROZAND, C. **An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products**. Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072. 2006 Journal of Applied Microbiology 101 (2006) 7–17

TOMPKIN, R.B.**Control of *Listeria monocytogenes* in the food- processing environment** . Journal of Food Protection, v. 65, nº4, p. 709-725,2002

TONDO.; *et al.* **Adhesion and biocides inactivation of *salmonella* on stainless steel and polyethylene.** Brazilian Journal of Microbiology, 2010

TROXLER.; *et al.* **Natural antibiotic Susceptibility of *Listeria* species: *L. gray*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* strains.** Clinical Microbiology Infection, Paris, v.6, n.10, p.525-536, 2000

TRUSCOTT, R. B.; MCNAB, W.B. **Comparison of media and procedures for the isolation of *Listeria monocytogenes* from ground beef.** Journal Food. Prot. V.51, p.626 – 628, 1988.

VARNAN, A.H. & EVANS, M.G. **Foodborne pathogens.** London: mosby Year Book. 1991, 557p.

VÁSQUEZ - BOLAND.; *et al.* ***Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants.** Clinical Microbiology Reviews, Washington, v.14, n.3, p.584-640, 2001

VITAS, A. I.; AGUADO, V.; GARCIA-JALON, I. **Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain).** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 90, n. 3, p. 349-356, Feb. 2004

VLAEMYNCK, G.; LAFARGE, V.; SCOTTER, S. **Improvement of the detection of *Listeria monocytogenes* by application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium.** J. Appl. Microbiol. 88, 430– 441, 2000.

WIRTANEN, G.; MATTILA-SANDHOLM, T. **Effect of the growth phase of foodborne biofilms on their resistance to chlorine sanitizer.** Part II. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, v.25, p.50-54, 1992.

WHITE, O. G.; *et al.* **Antimicrobial resistance of foodborne pathogens.** Microbes and Infection, v. 4, p.405-412, 2002

ZOTTOLA, E. A. **Microbial attachment and biofilm formation: a new problema for the food industry?** Food Technology , v.48, n.7, p.107-114, 1994.

ZWEIFEL, C.; STEPHAN, R. **Microbiological monitoring of sheep carcass contamination in three swiss abattoirs.** Journal of Food Protection, Ames, v. 66, n. 6, p. 946-952, 2003.

## 8 ANEXO I

**Investigação de *Listeria* sp. no ambiente de produção de um abatedouro frigorífico exportador do sul do Brasil**

**Investigation of *Listeria* sp. the production environment of a slaughterhouse refrigerator exporter in southern Brazil.**

Juliana Guedes Silveira<sup>5</sup>, Luiza Pieta<sup>6</sup> e Eduardo Cesar Tondo<sup>7</sup>

### **Resumo**

**Introdução:** *Listeria monocytogenes* é um microrganismo que se encontra disseminado na natureza, sendo responsável por causar listeriose, uma doença infecciosa causada pelo consumo de alimentos contaminados. **Método:** No presente estudo, foram coletadas 200 amostras ambientais em 100 cm<sup>2</sup> de alguns pontos do ambiente de abate de um frigorífico abatedouro exportador do sul do Brasil. **Resultados:** Das 200 amostras analisadas 12,5% foram positivas para *Listeria* spp. **Conclusão:** A presença das *Listeria* sp. encontradas no presente estudo é motivo de preocupação e merece ações corretivas eficazes.

**Palavras-chaves:** *Listeria* sp, Ambiente Industrial, Produto Carne

### **Introdução**

Nos últimos anos, a *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) emergiu como um importante agente de Doença Transmitida por Alimentos (DTA) (HOFFER, 2006) em diferentes partes do mundo. A listeriose alimentar caracteriza-se principalmente por septicemia, meningite e, nos casos mais graves,

---

<sup>5</sup> Mestranda do Programa de Pós- Graduação de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS

<sup>6</sup> Aluna de Iniciação Científica do Curso de Engenharia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS

<sup>7</sup> Professor Doutor, Orientador do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do Programa de Pós- Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS  
Contato: Eduardo Cesar Tondo; e-mail:tondo@ufrgs.br; Telefone: (51) 3308-6677

meningoencefalite (MONTEVILLE E MATTHEWS, 2008), acometendo principalmente idosos, crianças, gestantes e pessoas imunodeprimidas. Devido à alta taxa de mortalidade, essa doença vem despertando atenção especial das autoridades governamentais e da comunidade científica da área de alimentos

(KABUKI, 2004). Diversos surtos de listeriose ocorreram na década de 80 na América do Norte e Europa (SCHLECH, 1988). Em seguida, outros surtos também foram registrados em outras partes do mundo, demonstrando a severidade da *L. monocytogenes* transmitida por alimentos (JAY, 2005; MONTEVILLE AND MATHEWS, 2008). Embora no Brasil ainda não haja relatos comprovados de surtos de listeriose alimentar, muitos trabalhos têm demonstrado a presença do microrganismo em alimentos brasileiros (LOVETT, 1988; SCHLECH, 1988; NASCIMENTO; CULLOR, 1994; INTERLAB, 2002), sendo que a carne tem sido apontada como um dos principais vetores potenciais de listeriose (Brasil, 2009).

Condições sanitárias inadequadas durante o abate dos animais, cozimento inadequado, armazenamento impróprio e falta de higiene no preparo dos produtos cárneos são fatores que podem predispor os indivíduos a listerioses veiculadas pela carne. Além disso, a presença de microrganismos patogênicos em alimentos, muitas vezes, significa uma barreira para as exportações, influenciando significativamente na economia do país. Neste contexto, não só a *L. monocytogenes*, mas outras *Listeria* sp. têm despertado grande interesse das indústrias de carne e órgãos de fiscalização.

Estudos sobre o isolamento e a enumeração de *L. monocytogenes* em alimentos têm aumentado nos últimos anos, tendo em vista a comprovada relevância deste patógeno alimentar. De um modo geral, com a finalidade de prevenir a infecção por *L. monocytogenes*, é necessária a implementação de rígidos controles nos locais de processamento dos alimentos. A implementação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) pode ser muito importante (Brasil, 2009) para minimizar ou prevenir a contaminação por *Listeria* spp. Além disso, a realização de monitoramento dos produtos cárneos e do seu ambiente de industrialização pode contribuir com o controle das *Listeria* spp.

Devido à importância mundial da *L. monocytogenes*, um conceito que vem crescendo a cada dia, principalmente nas indústrias de alimentos, é a pesquisa de *Listeria* sp. como indicador da presença da *L. monocytogenes*. O Objetivo dessas análises é “encontrar *Listeria* sp. e tratá-las como *L. monocytogenes*”, uma vez que as *Listeria* sp. podem ter os mesmos hábitos que a *L. monocytogenes*, são mais abundantes e não têm sido envolvidas em surtos alimentares, permitindo que medidas preventivas sejam adotadas com antecedência e evitem a contaminação pela *L. monocytogenes*.

Com base nesses dados, a investigação de *Listeria* sp. em alimentos como a carne ou seu ambiente de processamento torna-se muito importante, principalmente porque o Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo (MAPA, 2008).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de *Listeria* sp. no ambiente de produção de um abatedouro frigorífico exportador do sul do Brasil.

### **Materiais e Métodos**

De Novembro de 2009 a abril de 2010, amostras ambientais foram coletadas em 100cm<sup>2</sup> de superfície de alguns pontos do ambiente de abate (paredes, ralos, mangueiras, equipamentos, e utensílios) de um abatedouro frigorífico da região serrana do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas durante o processo industrial, utilizando o *Swab Sampler*, contendo 1mL de caldo Letheen (3M<sup>TM</sup>) para transporte até o Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos do ICTA/UFRGS, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Uma vez no Laboratório, foram adicionados 2mL de Água Peptonada Tamponada (1%) aos tubos contendo os *Swabs* e caldo Letheen, os quais permaneceram à temperatura ambiente (até 25°C) durante 1 hora a 1 hora e 30 minutos, para recuperação de bactérias estressadas. Em seguida, os 3mL foram vertidos sobre placas Petrifilm<sup>TM</sup> EL, as quais foram incubadas a 35° C, por 28 a 30 horas, antes da leitura dos resultados. Foram analisadas 150 amostras, coletadas em 7 visitas ao abatedor frigorífico. As colônias típicas de *Listeria* sp. foram submetidas a provas bioquímicas para a determinação das espécies, segundo métodos preconizados pela Norma ISO 11290.

### **Resultados e Discussão**

Entre as 200 amostras analisadas, 25 (15,5%) apresentaram colônias típicas de *Listeria* sp. Dentre as amostras positivas, 14 foram coletadas em ralos, sendo que estas representaram 56% do total de amostras positivas coletadas no

abatedouro frigorífico. Amostras positivas dos ralos foram coletadas em cinco das sete visitas ao frigorífico, sugerindo que os mesmos são fontes expressivas de *Listeria* sp. e a sua higienização deve ser enfatizada.

Outras quatro amostras positivas foram encontradas em cubas de descarte, representando 20% do total de amostras coletadas; e duas em uma mesa de evisceração, representando 8%. Além disso, foram encontradas uma amostra positiva no bucal da saída em uma mangueira, uma em uma parede, uma em uma serra, uma em uma faca, representando 4%, 4%, 4% 4% respectivamente do total de amostras positivas.

As contagens de colônias típicas de *Listeria* sp. nos ralos variaram desde uma Unidade Formadora de Colônia (UFC), até valores superiores a 100UFC/cm<sup>2</sup> (valores incontáveis), sendo que quantidades semelhantes também foram encontradas no bucal da uma mangueira e em algumas cubas de descarte.

Um fato interessante é que na primeira coleta (09/11/2009), todas as amostras de ralo apresentaram colônias típicas de *Listeria* sp. Cerca de dois meses depois, no dia 25/01/2010, três das cinco amostras de ralos foram positivas, e no dia 29/03/2010, duas entre três amostras também foram positivas. Nas demais coletas (14/12/2009, 11/01/2010, 08/02/2010 e 15/03/2010), uma ou nenhuma amostra positiva foi encontrada, demonstrando variações nos níveis de contaminação de *Listeria* sp. no frigorífico investigado.

Amostras positivas da parede, de três cubas, de um “chutts” (escorregador) e da serra foram coletadas no dia 08/02/2010, quando visivelmente havia maior número de resíduos no ambiente de processamento das carcaças. No

dia 29/03/2010, uma amostra positiva foi coletada de uma faca. A contaminação de utensílios como facas e serras é preocupante, uma vez que eles entram em contato direto com as carcaças. Além disso, a presença desse organismo nesses utensílios foi um fato curioso porque eles eram higienizados a cada carcaça processada, conforme procedimentos preconizados pelo MAPA.

A mangueira (não o bucal, mas seu comprimento) não apresentou amostras positivas e isso pode ser explicado pelo fato dela encontrar-se frequentemente enrolada em seu suporte, ficando apenas o bucal da mesma, às vezes, em contato com o chão. Cabe lembrar que no dia 25/01/2010 uma amostra do bucal da mangueira foi positiva para *Listeria* sp.

A mesa de evisceração que apresentou contaminação era do tipo rolante, sendo movimentada para diversos locais do abatedouro, o que pode ter propiciado a contaminação por *Listeria* sp.

As diversas amostras positivas encontradas nas cubas de descarte podem ser explicadas pelo fato delas estarem em contato com resíduos passíveis de estarem fortemente contaminados, como pedaços de intestino contaminado por fezes, pedaços de carne contaminados por bile ou sujidades aparentes.

No abatedouro estudado, pôde-se perceber que as duas serras utilizadas ficavam em locais diferentes, provavelmente justificando a contaminação da serra 1 e a não contaminação da serra 2 por *Listeria* sp. A serra 1 estava situada no início da linha de abate, onde as carcaças ainda apresentavam couro e, portanto, maior contaminação. Já a serra 2 estava situada no final da linha de abate, sendo utilizada apenas para dividir as carcaças limpas ao meio.

Mesmo que diversos estudos apontem a ocorrência de *Listeria* sp. em ambientes de produção de abatedouros frigoríficos ou produtos cárneos (SLADE, 1992; PICCHI et al., 1999; SUIHKO et al., 2002; PECCIO et al., 2003; BARBALHO et al., 2005; BARROS et al., 2004; GUDBJÖRNSDÓTTIR et al., 2004), a presença das *Listeria* sp. encontradas no presente estudo é motivo de preocupação e merece ações corretivas eficazes.

**Agradecimentos:** Gostaria de agradecer a Empresa 3M do Brasil pelo material fornecido para a realização do estudo.

**Abstract:**

*Listeria monocytogenes* is a microorganism that is widespread in nature, being responsible for causing listeriosis, a disease caused by consumption of contaminated food. In this study, we collected 200 environmental samples of 100 cm<sup>2</sup> of parts of the environment in a slaughterhouse for slaughter slaughterhouse in southern Brazil Exporter Of 200 samples tested 12.5% were positive for *Listeria* spp. The presence of *Listeria* sp. found in this study is cause for concern and deserves effective corrective actions.

**Referências:**

BARBALHO, T.C.F.; ALMEIDA, P.F.; ALMEIDA, R.C.C.; HOFER, E. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. *Food Control*, v.16, p. 211-216, 2005.

BARROS, M.A.F.; BELOTI, V.; HAGA, M.M.; CAVALETTI, L.; d'OVIDIO, L.; AMORIM, F.A.; NERO, L.A. *Listeria* spp.: ocorrência em equipamentos e ambientes de processamento de carne bovina. *Semana: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 25, n.4, p. 341-348, 2004

BRASIL; Instrução Normativa nº9 de 9 de Abril de 2009, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Defesa Agropecuária – DAS; Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA.

GUDBJÖRNSDÓTTIR, B.; SUIHKO, M.-L.; GUSTAVSSON, P.; THORKESSON, G.; SALO, S.; SJÖBERG, A.-M.; NICLASSEN, O.; BREDHOLT, S. The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiology*, n. 21 p. 217-225, 2004.

HOFER, ERNESTO; REIS, CRISTHIANE MOURA FALAVINA DOS AND HOFER, CRISTINA BARROSO. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2006, vol.39, n.1, pp. 32-37. ISSN 0037-8682.

INTERLAB. Internews Industrial. Listeria- Um inimigo silencioso. Ano II, n.3, 1 sem. 2002. Disponível em: [www.interladist.com.br/ind\\_htm/internws\\_ind\\_3.htm](http://www.interladist.com.br/ind_htm/internws_ind_3.htm)

JAY, M.J. *Microbiologia de Alimentos*. 6.ed.Porto Alegre:Artmed, 2005 p.711

KABUKI, D. Y. Rastreamento de *Listeria monocytogenes* em indústrias processadoras de queijo frescal tipo latino, nos Estados Unidos da América, empregando a subtipagem molecular. 2004. 145f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)-Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2004

LOVETT, J. Isolation and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. *Food Technology*, v.42, n.52, p. 172-175. 1988.

Ministério da Agricultura,2008 [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)

MONTEVILLE, T.J.; MATTHEWS, K.R. *Food Microbiology an Introduction*, 2<sup>nd</sup> ed: Washington, DC, Asm Press, 2008

NASCIMENTO,M.G.F.; CULLOR,J.S. Listeriose Humana – Epidemiologia e Fontes de Contaminação . *Higiene Alimentar*, v.8, n. 32, p. 13-17, jul.1994

PECCIO, A.; AUTIO, T.; KORKEALA, H.; ROSMINI, R.; TREVISANI, M. *Listeria monocytogenes* occurrence and characterization in meat-producing plants. *Letters in Applied Microbiology*, v.37, p. 234-238, 2003.

PICCHI, V.; RAMOS SILVA, E.O.T.; SOUZA, S.L.P.; BALIAN, S.C. Isolamento e identificação de *Listeria* spp., em quartos dianteiros de bovinos desossados. *Higiene Alimentar*, v.13, n.63, p.38-42,1999.

SCHLECH, W.F. Foodborne listeriosis. *Clinical Infection Diserases*, Boston, v.31, p. 770-775, 1998

SLADE, P.J. Monitoring *Listeria* in the food production environment. I. Detection of *Listeria* in processing plants and isolation methodology. Food Research International, v. 25, p. 45-56, 1992.

SUIHKO, M.L.; SATU, S.; NICLASEN, O. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from the meat, poultry and seafood industries by automated ribotyping. International Journal of Food Microbiology, v.72, p.137-146, 2002.

Araraquara, 23 de setembro de 2010

**Ilmo(a). Sr(a).**

**Prof(a). Dr(a). Juliana Guedes Silveira**

A Comissão Editorial da revista Alimentos e Nutrição  
informa que o trabalho

**Título:** "Investigação de *Listeria* sp. no ambiente de  
produção de um abatedouro frigorífico exportador do sul do  
Brasil".

**Autores:** Juliana Guedes Silveira

Luiza Pieta

Eduardo César Tondo

foi recebido e será submetido à apreciação de nossa Assessoria  
Científica.

Atenciosamente,

*Prof. Dr. João Bosco Faria*

Editor Chefe