# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE VETERINÁRIA TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

OCORRÊNCIA DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> EM INSTALAÇÕES
UTENSÍLIOS E CARCAÇAS EM MATADOURO-FRIGORÍFICO DE
BOVINOS LOCALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL

Aluno: Jonas Coruja Cardoso

Porto Alegre 2012/1

## UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE DE VETERINÁRIA TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

# OCORRÊNCIA DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM INSTALAÇÕES, UTENSÍLIOS E CARCAÇAS EM MATADOURO-FRIGORÍFICO DE BOVINOS LOCALIZADO NO RIO GRANDE DO SUL

**Autor: Jonas Coruja Cardoso** 

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção da Graduação em Medicina Veterinária

**Orientador: Guiomar Pedro Bergmann** 

Co-orientadora: Liris Kindlein

Porto Alegre 2012/1

#### **AGRADECIMENTOS**

Esse trabalho representa o fechamento de um ciclo de aprendizados veterinários e pessoais em que olho para trás e vejo o quão diferente sou hoje, ao final destes seis anos.

Agradeço especialmente a minha mãe pelo apoio e esforços incondicionais nesses anos de estudos, que somente nós sabemos o quão árduo e difícil foi o caminho trilhado até aqui.

Um muito obrigado especial ao meu Irmão Evandro, que sem seu estímulo e conselhos, não estaria me formando em uma faculdade pública. Também meus sinceros agradecimentos aos demais irmãos Rafael e Juares e ao tio Alvício por todo apoio e compreensão durante esta longa jornada.

Sei que de algum lugar meu pai Bercírio (*in memorian*) tem me acompanhado e me dado forças em todos os momentos de minha vida, muito obrigado.

Ao meu professor orientador Guiomar P. Bergmann, por todos os seus ensinamentos profissionais e pessoais, pelos momentos de descontração durante os trabalhos e por ser, para mim, um exemplo de pai e amigo nestes poucos anos de convivência.

Uma enorme gratidão a professora Liris Kindlein, pelo seu esforço e empenho em tornar seus alunos melhores profissionais, por suas orientações a diversos trabalhos, por suas infinitas correções e por sua amizade. E se hoje saio da faculdade melhor do que entrei, devo muito aos seus ensinamentos.

Um muito obrigado a professora Susana Cardoso, pela oportunidade de participar da equipe do Centro de Ensino, Pesquisa e Tecnologia de Carnes - CEPETEC e pelo exemplo, profissional e pessoal, de bom convívio, organização e amizade.

Por fim, agradeço imensamente aos amigos e familiares de dentro e fora da universidade que me apoiaram nesta longa caminhada, e como deixar de lembrar da equipe do CEPETEC, companheiros e parceiros de trabalho para todas as horas. Ana, Ana Paula, Bruna, Cássia, Daniele, João, Maurício, Nicole, Rafael, Ugo e Quintilha, Muito Obrigado!

Termino esta etapa da minha vida com a consciência de que ter frequentado uma faculdade pública e de qualidade, como a Faculdade de Veterinária da UFRGS, torna minha responsabilidade ainda maior perante a sociedade.

# **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO	8
<b>2 ARTIGO CIENTÍFICO:</b> Ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em instalações, u e carcaças em matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul"	
3 CONCLUSÕES FINAIS	
REFERÊNCIAS	22

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Ocorrência de Listeria spp. em instalações, utensílios e carcaças em matadouro-
	frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul
TABELA 2 -	Ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em Instalações, utensílios e carcaças em
	matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul

## LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

Aa: Atividade de água

DTA's: Doenças Transmitidas por Alimentos

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

ISDF: Instituto de Saúde do Distrito Federal

LCR: Líquido encefalorraquidiano

NaCl: Cloreto de Sódio

pH: Potencial hidrogeniônico

SIF: Serviço de Inspeção Federal

SPS: Sanitary and Phytosanitary Measures

**RESUMO** 

O mercado de carne bovina é um dos principais segmentos do setor agropecuário no

Brasil. O país é o maior exportador e um dos maiores produtores do mundo. A demanda por

esse tipo de carne vem crescendo por parte dos países estrangeiros e paralelamente a esse

aumento cresce também as exigências com relação á qualidade higiênico-sanitária da matéria-

prima e do processo de elaboração. A principal preocupação dos importadores e da indústria

cárnea é quanto à qualidade microbiológica dos produtos brasileiros, pois estes podem ser

uma fonte para veiculação de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's). A listeriose é

uma relevante DTA devido à gravidade de sua manifestação clínica em humanos infectados,

neste contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a ocorrência de bactérias do gênero

Listeria e especificar Listeria monocytogenes em instalações, utensílios e carcaças bovinas

abatidas em um matadouro-frigorífico localizado no Rio Grande do Sul. Foram coletados 60

suabes de instalações, utensílios e carcaças para posterior isolamento em laboratório de

microbiologia e especificação utilizando o método de PCR. Em 18,75% das instalações,

45,6% dos utensílios e 5% das carcaças, houve positividade para bactérias do gênero *Listeria*.

A presença de L. monocytogenes ocorreu em 12,5% dos pontos de amostragem de pisos da

câmara fria e em 25% dos ganchos amostrados, demonstrando a sobrevivência e proliferação

deste patógeno em ambientes refrigerados. Portanto, a presença do micro-organismo na planta

frigorífica demonstra a necessidade da adequação dos procedimentos de higienização para o

controle desta bactéria.

Palavras-chave: DTA; Microbiologia; L. monocytogenes

#### **ABSTRACT**

The beef market is one of the main farming and cattle raising sector segment in Brazil. The country is the greatest exporter and one of the greatests producers in the world. The demand for this type of meat has increased by foreign countries and in parallel to this growth also increases the requirements on the hygienic sanitary quality of raw material and process elaboration. The major concern for the importers and meat industry is with microbiological quality of brazilian products, as these can be a source for transmission of Foodborne Diseases (FBD's). Listeriosis is a relevant FBD due to the severity of clinical manifestation in humans infected in this context, the objective of this study was to determine the occurrence of bacteria of the genus Listeria and specify Listeria monocytogenes in installations, tools and bovine carcasses slaughtered in one slaughterhouse located in Rio Grande do Sul. 60 swabs were collected from, installations, utensils and carcasses for further isolation in the microbiology laboratory and specification using the PCR method. In 18.75% of the installations, 45.6% of de utensils and 5% of carcasses were positive for bacteria kind *Listeria*. The presence of *L*. monocytogenes occurred in 12.5% of sampling points in the cold room floors and 25% of the cold hooks, demonstrating the survival and proliferation of this pathogen in refrigerated environments. Therefore, the presence of micro-organisms in slaughterhouse demonstrates the need for adequacy of hygiene procedures for the control of these bacteria.

Keywords: Foodborne Diseases; Microbiology; L. monocytogenes

## 1 INTRODUÇÃO

A carne bovina é uma das principais fontes de proteína animal no Brasil, em 2010 o consumo foi de aproximadamente 35 Kg per capita (ABIEC, 2011). Além disso, o país é o maior exportador de carne de gado desde 2003. Os países importadores, para garantir um produto de qualidade, estão cada vez mais exigentes e lançam mão de medidas que podem trazer barreiras comerciais. Segundo Icone (2010) o acordo de medidas sanitárias e fitossanitárias (SPS) possibilita os países importadores fazer exigências santiárias para garantir a segurança e a qualidade dos alimentos e estas medidas podem ser mais rígidas do que os padrões estabelecidos internacionalmente desde que comprovada a plausabilidade científica. Neste cenário é de extrema importância a qualidade higiênico-sanitária dos produtos, pois estes devem ser inócuos e não causar danos a saúde de seus consumidores. Segundo Uchima, (2008) levantamentos epidemiológicos a nível internacional apontam os produtos de origem animal, como os veículos mais frequentes dos casos e surtos de doenças transmitidas por alimentos. Dentre as principais DTA's, destaca-se a listeriose por ser uma doença que se caracteriza por apresentar nos indíviduos infectados febre, gastrenterites e na forma severa da doença, septcemia, menigoencefalite, encefalite, infecção cervical ou intrauterina capaz de resultar em aborto ou prematuridade (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

A *L. monocytogenes*, é o principal agente etiológico da listeriose reconhecida como entidade patogênica para os animais desde 1926, contudo, somente na década de 80, é que passou a merecer maior consideração em saúde pública, quando se reconheceu a importância dos alimentos na cadeia de transmissão e infecção ao homem (GERMANO & GERMANO, 2001). A associação entre produtos cárneos e casos de listeriose nos países desenvolvidos, aliados ao fato do micro-organismo ser isolado com frequência ao nível de varejo, indicam que os produtos refrigerados, bem como pratos prontos congelados e inadequadamente reaquecidos, podem constituir um risco para a saúde pública (FARBER & PETERKIN, 1991). Nos Estados Unidos, o estudo de Lecuit (2007) relata que aproximadamente 2500 pessoas ficam doentes devido à infecção por *L. monocytogenes* por ano no país, e, destas, cerca de 500 (20%) chegam a óbito. No Brasil não há dados que ilustrem a magnitude da doença, pois, ainda não é compulsória a notificação de casos de *L. monocytogenes*. Segundo HOFER (1998) no período de fevereiro a junho de 1989, foram diagnosticados no Instituto de Saúde do Distrito Federal (ISDF) três casos de meningite bacteriana associada a *L. monocytogenes*, os pacientes foram um recém-nascido, uma criança e um adulto, sendo que

este último resultou em óbito. Já em um estudo-piloto realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, foram analisadas 10 placentas humanas provenientes de abortos ou partos prématuros pela técnica de imuno-histoquímica e foi identificada a presença de *L. monocytogenes* em 50% das amostras (SCHWAB & EDELWEISS, 2003). Landgraf et al. (1999) isolaram *L. monocytogenes* (soro-tipo 4b) do líquido encefalorraquidiano (LCR) de cinco crianças recém-nascidas em um hospital da Grande São Paulo, sendo que três crianças não sobreviveram.

Em 2009 entrou em vigor a Instrução Normativa N° 09, que estabelece procedimentos de controle para a *L. monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo (BRASIL, 2009). Apesar da instrução determinar ausência de *L. monocytogenes* apenas aos produtos de origem animal prontos para o consumo é importante que os ambientes de processamento, utensílios e equipamentos que entram em contato com o alimento estejam livres deste patógeno, para que não ocorra a contaminação cruzada na obtenção do produto final. Segundo Farber e Peterkin, (1991) condições sanitárias deficientes durante o abate dos animais, cozimento inadequado e falta de higiene durante o preparo dos produtos cárneos são condições que podem levar os indivíduos a se contaminarem e desenvolverem a doença ou se tornarem portadores assintomáticos.

A presença de qualquer espécie do gênero *Listeria* nos alimentos de origem animal é um indicativo de condição higiênica deficiente em alguma etapa do processo industrial na obtenção da matéria-prima (LACIAR et al, 2006). Devido à importância da listeriose na saúde pública e os poucos estudos com o isolamento de *L. monocytogenes* em ambientes de beneficiamento da carne bovina esta monografia tem por objetivo apresentar um artigo científico evidenciando a presença deste importante micro-organismo em ambientes de beneficiamento da carne bovina.

A próxima seção deste trabalho será apresentada na forma de um artigo científico. O artigo científico será submetido à publicação na Revista Científica *Acta Scientiae Veterinariae*, intitulado "Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em instalações, utensílios e carcaças em matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul". Este artigo apresenta a ocorrência de bactérias do gênero *Listeria* em matadouro-frigorífico bem como sua forma de isolamento laboratorial e identificação da espécie *Listeria monocytogenes* pelo método de PCR.

### 2 ARTIGO CIENTÍFICO

Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em instalações, utensílios e carcaças em matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul Ocurrence of *Listeria monocytogenes* in installations, tools and carcasses in slaughterhouse of bovine localized in Rio Grande do Sul

JONAS CORUJA CARDOSO¹; JOÃO PEREIRA GUAHYBA BISNETO¹; MAURÍCIO SILVA FISCHMANN¹; GUIOMAR PEDRO BERGMANN²; LIRIS KINDLEIN²

<sup>1</sup>Acadêmico de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS. <sup>2</sup>Professor Adjunto da faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Medina Veterinária Preventiva, Centro de Ensino, Pesquisa e Tecnologia de Carnes, UFRGS. CORRESPONDÊNCIA: J.C.CARDOSO [jonasccardoso@yahoo.com.br – Fone: + 55 (51) 9546-2999]. Av. Bento Gonçalves n° 8834, CEP: 91540-000. Porto Alegre, RS, Brasil.

#### **ABSTRACT**

Background: Brazil is the greatest bovine meat exporter since 2003 and 75% of these meats are exported raw. There is a growing demand for this kind of meat for foreign countries, and also a demand for a better quality raw material and product elaboration and hygiene. Beef inocuity and quality are factors presenting an even larger industry concern, which has constantly investing in tools and technologies, especially related to microbiological control in order to achive safety and longer product shelf life. Within this context, Food Borne Diseases (FBD) agents, such as Listeria monocytogenes, presents as a major micro-organism concern for public health. Human listeriosis is one of the most important FBD, caused by bacteria genus Listeria, being L.monocytogenes the most important specie. This bacteria genus are composed by bacteria with excellent growing at 30°C to 37°C, nevertheless being capable of multiplicate beneath refrigeration. Besides, is one of the uniques micro – organism able to develop in very low water activity substrats, such as 0,93, and the culture medium with 10%

NaCl, all characteristics associated with biofilm formation, wich make very difficult to eliminate *L.monocytogenes* from food manipulating places. The major symptoms of listeriosis are influenza like, with persistent fever, nausea, vomiting and diarrhea. When the microorganism reaches the host nervous system, the worse disease form, courses meningitis or meningoencephalitis, and may lead the host to death. Listeriosis in pregnant women may causes abortion, premature birth, foetus malformations and newborn septicemia. Regarding listeriosis public health importance, the present study has the objective of evaluate *Listeria* occurrence and *L.monocytogenes* indentification by the PCR method, in installations, tools and bovine carcasses in a slaughterhouse located at Rio Grande do Sul, Brazil.

Materials, Methods & Results: Sixty (60) swabs were collected from installations surfaces (floor and roof), utensils (plastic boxes, knives and hooks) and carcasses (warm and cold), which later were transported for microbiology identification at laboratories, in UVM broth, under refrigeration, incubated at 30°C for 24 hours. After this period, a 1mL sample was transferred to Fraser broth and keeped at 30°C for 24 hours. After genus Listeria identification on ALOA Agar, the specie identification was realized using PCR method, with heat DNA extraction. 23,3% of the samples were positive for bacteria Listeria spp. In 18,75% of the installations samples, 45,6% of utensils and 5% of carcasses, Listeria spp. were isolated. L.monocytogenes presence occurred in 5% of total samples, 12,5% of floor samples and 25% of hooks.

**Discussion:** These data collected show pathogen survival and proliferation in cold places. Even though carcasses were not contaminated with *L.monocytogenes* at the present study, the bacteria presence in tools and utensils directly linked to the carcass, and in the cold chamber floor, display the possibility of cross contamination. Therefore, the micro–organism presence

at the slaughterhouse demonstrates the hygiene process adequation necessary to this bacteria

control.

**Keywords**: FBD; *L. monocytogenes*, Microbiology; PCR; Public Health

Descritores: DTA; L. monocytogenes; Microbiologia; PCR; Saúde Pública

INTRODUÇÃO

A listeriose humana é uma das principais doenças transmitidas por alimentos, causada

por bactérias do gênero Listeria. Este gênero é constituído por bactérias em forma de

bastonete, gram positivo, não formador de esporos, anaeróbio facultativo, móvel com flagelos

peritríquios e ainda apresenta crescimentto entre 2°C a 45°C, sendo capaz de se desenvolver

sob refrigeração e a faixa de pH para seu desenvolvimento varia entre 4,5 a 9,5 [9]. A

listeriose acomete preferencialmente gestantes, idosos, recém-nascidos, indivíduos com

síndrome da imunodeficiência adquirida, pessoas com cirrose e outras doenças que acometam

o sistema imunológico [16]. A L. monocytogenes, é a espécie mais patogênica para o homem,

devido à gravidade da manifestação clínica e a alta taxa de mortalidade, em torno de 30%

entre as populações de risco [14]. De acordo com Camargo [5] L. monocytogenes pode

sobreviver em superfícies inanimadas através da formação de biofilmes o que dificulta sua

eliminação através dos procedimentos de limpeza e desinfecção. Um dos maiores desafios

atualmente é a ausência de um método eficiente e rápido para isolar L. monocytogenes em

amostras de alimentos. Nos últimos anos a maioria dos trabalhos faz menção apenas a

bactérias do gênero Listeria não especificando a L. monocytogenes e não distinguindo esta das

demais epécies [12]. O presente trabalho tem por objetivo avaliar a ocorrência de bactérias do

gênero Listeria e diferenciação de L. monocytogenes, pelo método de PCR, em instalações,

utensílios e carcaças bovinas abatidas em um matadouro-frigorífico localizado no Rio Grande do Sul.

### MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta das amostras foi realizada em um matadouro-frigorífico de bovinos localizado na região serrana do Rio Grande do Sul com Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Para análise bacteriológica qualitativa de Listeria spp. foi coletado um total de 60 amostras por meio de suabes de superfície com 50 cm<sup>2</sup> de área [1]. Os pontos de amostragem foram: instalações (piso e teto), utensílios (caixas plásticas, facas de sangria e ganchos da câmara fria) e carcaças na região do músculo longissimus dorsi em duas etapas do processo de abate, carcaça quente (0 hora após abate) e caracaça fria (24 horas após abate). Para isolamento de Listeria spp. foi utilizado a metodologia preconizada pelo [17]. Os suabes foram imersos em tubos de ensaio contendo 10mL de caldo UVM e transportados sob refrigeração para o Centro de Ensino, Pesquisa e Tecnologia de Carnes (CEPETEC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), onde permaneceram em estufa a 30°C para o processo de enriquecimento primário. Após esse período uma alíquota de 1mL dessa solução foi adicionada em 9mL de caldo Fraser para enriquecimento seletivo secundário com incubação a 30°C por 24h. Cada amostra foi repicada para placas contendo meio seletivo de cultura Ágar ALOA (Ágar Listeria Ottaviani Agostti) e incubadas a 30°C. A leitura das placas foi realizada após 24h, considerando a presença de Listeria spp. em amostras onde houve crescimento de colônias características verde-azuladas com halo ao redor. Para a detecção e identificação da presença de L. monocytogenes entre as amostras de Listeria spp. isoladas através do método microbiológico convencional, foi utilizada a técnica de reação em cadeia da polimerase

(PCR). Sendo a extração de DNA realizada por calor segundo Guo [10] enquanto que a reação em cadeia da polimerase foi realizada segundo Hartmann [11].

#### RESULTADOS

Os resultados obtidos serão descritos nas tabelas 1 e 2. A tabela 1 apresenta a presença do micro-organismo *Listeria spp.* em diferentes locais, já a tabela 2 indica onde houve a presença de *L. monocytogenes*.

Em 23,3% do total das amostras ocorreu a presença de bactérias do gênero *Listeria* spp. indicando a maior possibilidade de existência de bactérias *L. monocytogenes*, a mais patogênica para o homem. O micro-organismo foi identificado em 18,75% das amostras coletadas nas instalações, em 41,66% dos utensílios e em 5% das carcaças, conforme tabela 1.

Os resultados obtidos na tabela 2 indicam que houve a presença de *L. monocytogenes* em 5% da totalidade das amostras analisadas (60), sendo que a maior ocorrência (25%) foi nos ganchos da câmara fria, onde também foi encontrado a presença do gênero *Listeria* em 50% das análises, demonstrando uma relação positiva entre maior ocorrência do gênero e da espécie *L. monocytogenes*.

#### DISCUSSÃO

Concordando com os dados deste trabalho, Barros *et al.* [4] observaram a presença de *Listeria spp.* em 33,7% das amostras de instalações e utensílios analisados em matadouros de bovinos.

Segundo Barbalho [3], a detecção de qualquer espécie de *Listeria* spp. nos alimentos e superfícies envolvidas com processamento de alimentos, é uma possível indicação da presença de *L. monocytogenes*. A maior positividade de *L. monocytogenes* em ganchos da câmara fria, superfície a qual se faz a pendura das carcaças e entra em contato direto com a

matéria-prima, pode estar relacionada com a temperatura mais baixa desse ambiente, o que propiciaria a sobrevivência e proliferação do micro-organismo [7].

Lima et al. [13] pesquisando o micro-organismo em uma linha de beneficiamento de linguiça mista frescal encontraram amostras positivas em 20,8% dos equipamentos e 21,1% de coletas de ambiente, porém não encontraram a presença de L. monocytogenes na matériaprima. Similarmente a estes autores, Chesca et al. [6] realizaram um estudo envolvendo análises de 120 carcaças de bovinos e 100% das amostras foram negativas para L. monocytogenes. Fontoura et al. [8] avaliaram a superfície externa de 80 carcaças bovinas (coxão, lombo e ponta de agulha) sendo 40 logo após a lavagem e 40 após 24 horas sob refrigeração e bactérias do gênero Listeria não foram encontradas em nenhuma das amostras. Akkaya et al. [2] analisando 250 suabes de carcaças bovinas em 5 abatedouros diferentes encontraram a presença de L. monocytogenes em 6,8% das carcaças, corroborando com os dados encontrados no presente estudo, onde não foi encontrada L. monocytogenes nos suabes de carcaças. Silveira [15] relata ter encontrado presença de Listeria spp. em 15,5% (25) das 200 amostras de carcaças e ambientes de abatedouro de bovinos e destas 25 amostras positivas 56% (14) foram coletadas nas instalações (ralos), diferentemente do presente estudo em que a maior ocorrência da bactéria foi encontrada em utensílios. Em um estudo realizado por Chiarini [7], em um abatedouro de aves, foram avaliadas 158 amostras de superfícies que estavam em contato com o alimento e 99 de superfícies sem contato com o alimento. Nesse estudo, o autor verificou que 31 (19,6%) amostras de superfícies de contato e 27 (27,3%) amostras de superfícies sem contato foram positivas para L. monocytogenes, evidenciando que o ambiente pode ser uma fonte de contaminações.

### CONCLUSÃO

A identificação do micro-organismo em utensílios e instalações é uma potencial fonte de contaminação cruzada durante o processamento da carne, representando risco à saúde pública. Apesar das carcaças não apresentarem contaminação por *L.monocytogenes* neste estudo, a presença da bactéria em utensílios que entram em contato direto com a matéria-prima e no piso da câmara fria, demonstra a necessidade de melhor higienização da planta frigorífica, principalmente nos locais refrigerados. Além disso, o método de PCR, se mostrou rápido e eficiente para especificação de *L.monocytogenes*.

Tabela 1 – Ocorrência de *Listeria spp*. em instalações, utensílios e carcaças em matadouro-frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul.

PONTOS DE AMOSTRAGEM	OCORRÊNCIA (%)	TOTAL DE AMOSTRAS
Instalações	3 (18,75)	16
Piso da câmara fria	3 (37,5)	8
Teto da câmara fria	0	8
Utensílios	10 (41,6)	24
Ganchos na câmara fria	3 (37,5)	8
Caixas plásticas	4 (50,0)	8
Facas de sangria	3 (37,5)	8
Carcaças	1 (5,0)	20
Carcaça quente (0 h após abate)	1 (10,0)	10
Carcaça fria (24 h após abate)	0	10
TOTAL	14 (23,3)	60

Tabela 2 — Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em instalações, utensílios e carcaças em matadouro- frigorífico de bovinos localizado no Rio Grande do Sul.

PONTOS DE AMOSTRAGEM	OCORRÊNCIA (%)	TOTAL DE AMOSTRAS
Instalações	1 (12,5)	16
Piso da câmara fria	1 (12,5)	8
Teto da câmara fria	0	8
Utensílios	2 (25)	24
Ganchos na câmara fria	2 (25)	8
Caixas plásticas	0 (0)	8
Facas de sangria	0 (0)	8
Carcaças	0 (0)	20
Carcaça quente (0 h após abate)	0 (0)	10
Carcaça fria (24 h após abate)	0 (0)	10
TOTAL	3 (5)	60

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

### REFERÊNCIAS

- **Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)**. **1988.** Preparo da amostra para exame microbiológico: NBR 10203. Rio de Janeiro: ABNT, 1988.3p.
- 2 Akkaya, L., Alisarli, M., Cetinkaya, Z., Telli, R. & V. Gök. 2008. The prevalence of *E.coli* o157/o157:h7, *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. on bovine carcasses in turkey, Afyonkarahisar Province, Turkey. *Journal Muscle Foods* 19: 420–429.
- **Barbalho, T.C.F. 2002**. *Listeria* em abatedouro de frangos: ocorrência, disseminação e proposição de um método rápido para confirmação e identificação das espécies. 73 f. Salvador, BA. Dissertação (Mestrado em Nutrição Animal) Programa de pós- graduação, Universidade Federal da Bahia.
- 4 Barros, M.A.F. Nero, L.A., Silva, L.C., D'ovidio, L., Monteiro, F.A., Tamanine, R., Hofer, E. & Beloti, V. 2004. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. *Meat Science*, 76: 591-596.
- **Camargo, T. M. 2010**. Prevalência de *Listeria monocytogenes*, coliformes totais e *Escherichia coli* em leite cru refrigerado e ambiente de ordenha de propriedades leiteiras do estado de São Paulo. 104 f. Piracicaba, SP. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo.
- 6 Chesca, A.C., Policarpo de Freitas, A.C., Da silveira, M. & D'angelis, C.E.M. 2010. *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp.: investigação em carne bovina tipo exportação. *Revista Higiene Alimentar*. 24 (184/185): 133-137.
- **Chiarini, E.B. 2007**. *Listeria monocytogenes* em matadouro de aves: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação. 146 f. São Paulo, SP. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos-Área Bromatologia) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- **Fontoura**, **C. L. 2006.** Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. 77 f. Jaboticabal, SP. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.
- **Franco, B. D. G. M. & Landgraf, M. 2006**. *Microbiologia de Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 182p.
- **Guo, X. 2000.** PCR detection of Samonella enterica serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from hila. *Applied and Environmental Microbiology*. May: 5248-5252.

- **Hartmann, W. 2009.** Características físico-químicas, microbiológicas, de manejo e higiene na produção de leite bovino na região oeste do Paraná: ocorrência de *Listeria monocytogenes*. 88 f. Curitiba, PR. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Escola de Biotecnologia Industrial, Universidade Federal do Paraná.
- 12 Laciar, L., Vaca, R. & Lopresti, A. 2006. DNA fingerprinting by ERIC-PCR for comparing *Listeria* spp. strains isolated from different sources in San Luis, Argentina. *Revista Argentina de Microbiologia*. 38: 55-60.
- **Lima, A. S., Von Laer, A. E., Trindade, P. S. & Silva,W. P. 2005.** *Listeria monocytogenes* dissemination in mixed fresh sausage processing evaluated by serology and RAPD. *Nutrição e Alimentos*.16 (3): 245-251.
- 14 Ramaswamy, V., Cresence, V. M., Rejita, J. S., Lekshmi, M. U., Dharsana, D. S., Prasad, S. P. & Vijila, H. M. 2007. *Listeria* Review of epidemiology and pathogenesis. *Journal of Microbiology and Immunology and Infection*. 40: 4-13.
- **Silveira**, **J. G. 2010.** Investigação de *Listeria* sp. e microrganismos mesófilos totais em carcaças bovinas e em ambiente industrial de abatedouro. 65f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- **Slutsker**, **L. & Schuschat**, **A.1999.** Listeriosis in humans. In: Ryser E.T. & Martin E.H. *Listeria, listeriosis, and food safety.* 2nd ed. New York: Marcell Dekker, pp. 75-96.
- **United States Departament Of Agriculture (USDA). 1996.** Food Safety and Inspection Service. Rules and Regulations. Federal Register. Washington. v.61. USDA, n.144, 38931p.

## **3 CONCLUSÕES FINAIS**

O presente trabalho apontou para a presença de *L.monocytogenes* no ambiente de um matadouro-frigorífico, demonstrando a necessidade de intensificação da higienização e sanitização. A maior frequência do micro-organismo em locais frigorificados mostra a deficiência da desinfecção nestas instalações e nos utensílios que permanecem nelas. Além disso, o método para detecção de *L. monocytogenes* realizado por PCR, mostrou-se rápido e eficiente.

### REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. **Exportação de carnes bovinas do Brasil.** São Paulo: ABIEC, 2011. p.1-20. Disponível em: <a href="https://www.abiec.com.br/41">www.abiec.com.br/41</a> exportação ano.asp>. Acesso em: 13 dez. 2011.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Preparo da amostra para exame microbiológico: NBR 10203**. Rio de Janeiro: ABNT, 1988.3p.

AKKAYA, L., ALISARLI, M., CETINKAYA, Z., TELLI, R. and V. GÖK. The prevalence of *E.coli* o157/o157:h7, *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. on bovine carcasses in turkey, Afyonkarahisar Province, Turkey. **Journal Muscle Foods** 19, p. 420–429, 2008.

ALTEKRUSE, S.F.; COHEN, M.L.; SWERDLOW, D.L., Emerging foodborne diseases. **Emerging Infectious Diseases.** Atlanta, v.3, p. 285-293, 1997.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº9, de 8 de abril de 2009.** Institui os procedimentos de controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo.

BARBALHO, T.C.F. de. *Listeria* em abatedouro de frangos: ocorrência, disseminação e proposição de um método rápido para confirmação e identificação das espécies. 2002. 73 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) — Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2002.

BARROS, M.A.F.; NERO, L.A.; SILVA, L.C.; D'OVIDIO, L.; MONTEIRO, F.A., TAMANINE, R.; HOFER, E. & BELOTI, V. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science** 76, p. 591-596, 2004.

CAMARGO, T. M.; Prevalência de *Listeria monocytogenes*, coliformes totais e *Escherichia coli* em leite cru refrigerado e ambiente de ordenha de propriedades leiteiras do estado de São Paulo. 2010. 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

CHESCA, A.C.; POLICARPO DE FREITAS, A.C.; DA SILVEIRA, M.; D'ANGELIS, C.E.M. *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp.: investigação em carne bovina tipo exportação. **Revista Higiene Alimentar**. V.24, n.184/185, p.133-137, Maio/Junho 2010.

CHIARINI, E.B.; *Listeria monocytogenes* em matadouro de aves: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação. 2007. 146 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos-Área Bromatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FONTOURA, C. L. Estudo microbiológico em carcaças bovinas e influência da refrigeração sobre a microbiota contaminante. 2006. 77 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

- FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiological Review**, v.55, n.3, p.476-511, 1991.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2006. 182p.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 629 p.
- GUO, X. PCR detection of Samonella enterica serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from hilA. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 5248-5252, 2000.
- HARTMANN, W. Características físico-químicas, microbiológicas, de manejo e higiene na produção de leite bovino na região oeste do Paraná: Ocorrência de *Listeria monocytogenes*. 2009. 88f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Escola de Biotecnologia Industrial. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- HOFER, E.; DO NASCIMENTO, R. S.; DE OLIVEIRA, M. A. *Listeria monocytogenes* meningitis. Case reports in: patients from the Federal District. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.31, n.2, p.173-177, Mar.-Apr. 1998.
- INSTITUTO DO COMÉRCIO E NEGOCIAÇÕES INTERNACIONAIS. Acordo sobre a aplicação de medidas sanitárias e fitossanitárias. Brasil: ICONE, 2010. Disponível em: <a href="https://www.iconebrasil.org.br">www.iconebrasil.org.br</a>. Acesso em: 12 dez. 2011.
- LACIAR, L.; VACA, R.; LOPRESTI, A. DNA fingerprinting by ERIC-PCR for comparing *Listeria* spp. strains isolated from different sources in San Luis, Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia.** v.38, p. 55-60, 2006.
- LANDGRAF, I. M. et al. Surto de meningite por *Listeria monocytogenes*. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.58, n.1, p.63-67, 1999.
- LECUIT, M. Human Listeriosis and Animals Models. **Microbes and Infeccion.** v. 9, p.1216-1225, 2007.
- LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia do queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, v.31. n. 6, p. 1063-1067, 2001
- LIMA, A. S.; VON LAER, A. E.; TRINDADE, P. S.; SILVA,W. P. *Listeria monocytogenes* dissemination in mixed fresh sausage processing evaluated by serology and RAPD. **Alim.Nutr.**, Araraquara, v.16, n.3, p. 245-251, jul./set. 2005.
- MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DETZ, V.; MCCAIG, L. F; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V.; Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases.** Atlanta, v.5, p. 607-625, 1999.
- RAMASWAMY, V.; CRESENCE, V. M.; REJITA, J. S.; LEKSHMI, M. U.; DHARSANA, D. S.; PRASAD, S. P.; VIJILA, H. M.; *Listeria* Review of epidemiology and pathogenesis. **Journal of Microbiology and Immunology and Infection.** Taiwan, v.40, p. 4-13, 2007.

- SCHWAB, J. P.; EDELWEISS, M. I. A. Identificação de *Listeria monocytogenes* em placentas humanas e espécimes de aborto pela técnica de imunohistoquimica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial 39(2)**:11-114, 2003.
- SILVEIRA, J. G.; Investigação de *Listeria* sp. e microorganismos mesófilos totais em carcaças bovinas e em ambiente industrial de abatedouro. 2010. 65 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- SLUTSKER, L.; SCHUSCHAT, A. Listeriosis in humans. In: RYSER E.T.; MARTIN E.H; *Listeria*, *listeriosis*, and food safety. 2nd ed. New York. Marcell Dekker, 1999, p. 75-96.

UCHIMA, C.A.; *Listeria monocytogenes* em caqui (*Diospyros kaki*) nas variedades 'fuiu' e 'rama forte': incidência e crescimento. 2008. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

United States Departament of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. Rules and Regulations. **Federal Register**. Washington: USDA, v.61, n.144, p.38931, july, 1996.