



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PESQUISA DE INDICADORES DE BIOFILMES DE *ESCHERICHIA COLI*, *LISTERIA MONOCYTOGENES* E *SALMONELLA SPP.* EM ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS DE BOVINOS E AVES LOCALIZADOS NO DF, ENTORNO E GOIÁS

Rebecca Lavarini dos Santos
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Angela Patrícia Santana

BRASÍLIA - DF
JUNHO/2018



REBECCA LAVARINI DOS SANTOS

PESQUISA DE INDICADORES DE BIOFILMES DE *ESCHERICHIA COLI*, *LISTERIA MONOCYTOGENES* E *SALMONELLA SPP.* EM ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS DE BOVINOS E AVES LOCALIZADOS NO DF, ENTORNO E GOIÁS.

Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Angela Patrícia Santana

BRASÍLIA - DF
JUNHO/2018

Santos, Rebecca Lavarini dos

Pesquisa de indicadores de biofilmes de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves localizados no DF, Entorno e Goiás / Rebecca Lavarini dos Santos; orientação de Angela Patrícia Santana. – Brasília, 2018.

25 p. : il.

Trabalho de conclusão de curso de graduação – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2018.

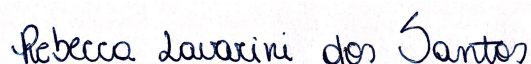
Cessão de Direitos

Nome do Autor: Rebecca Lavarini dos Santos

Título do Trabalho de Conclusão de Curso: Pesquisa de indicadores de biofilmes de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves localizados no DF, Entorno e Goiás.

Ano: 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.



Rebecca Lavarini dos Santos

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: SANTOS, Rebecca Lavarini dos

Título: Pesquisa de indicadores de biofilmes de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves localizados no DF, Entorno e Goiás.

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

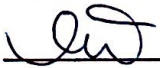
Aprovado em:

Banca Examinadora

Profª. Drª. Angela Patrícia Santana

Julgamento: aprovado

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: 

Profª. Drª. Simone Perecmanis

Julgamento: APROVADO

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: 

Profª. MSc. Margareti Medeiros

Julgamento: aprovado

Instituição: Faculdades Integradas da União Educacional do Planalto Central

Assinatura: 

Aos animais, especialmente ao Wilbour (*in memoriam*), Gaza (*in memoriam*) e Bartolomeu (*in memoriam*) por terem me ensinado lições de amor, gratidão, resiliência e lealdade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora pelo dom da vida, pela saúde e por todas as bênçãos derramadas durante essa graduação. Minha força veio do Céu!

Agradeço aos meus pais, Ubirajara e Susan, essa vitória é de vocês antes de ser minha! Seus ensinamentos estão sempre no meu coração, obrigada por nunca medirem esforços para que eu tivesse todas as oportunidades, por todo amor e encorajamento. Vocês são a minha maior inspiração!

Agradeço à toda minha família, meus avós, meus tios e sobretudo aos meus irmãos Rafael, Ruth e Rafaella por serem meu repouso barulhento e minha risada garantida ao fim do dia.

Agradeço ao meu namorado Macário por nunca hesitar em me apoiar, até mesmo quando isso significa ter menos tempo para nós. Obrigada por sonhar comigo e me dizer que eu sempre posso ir além!

Agradeço à minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Angela Patrícia Santana, que foi uma "mãe acadêmica" pois me orientou desde meus primeiros semestres. Obrigada por todas as conversas, conselhos, correções e aprendizados! Todos os alunos deveriam ter a oportunidade de serem tão maravilhosamente orientados como eu fui.

Agradeço a toda equipe de técnicos e pós-graduandos do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UnB, em especial a Emília e ao Virgílio por toda paciência, ensinamentos e gargalhadas nos momentos de tensão. Vocês iluminaram meu local de trabalho!

E por fim, agradeço aos colaboradores da Universidade de Brasília, ao CNPq e a todas as pessoas que me auxiliaram direta ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho. Muitíssimo obrigada!

“JOÃO GRILO: - Ah isso é comigo. Vou fazer um chamado especial, em verso. Garanto que ela vem, querem ver? (*Recitando*)
Valha-me Nossa Senhora, Mãe de Deus de Nazaré! A vaca mansa dá leite, a braba dá quando quer. A mansa dá sossegada, a braba levanta o pé. Já fui barco, fui navio, mas hoje sou escaler. Já fui menino, fui homem, só me falta ser mulher. Valha-me Nossa Senhora, Mãe de Deus de Nazaré.

ENCOURADO: - Vá vendo a falta de respeito, viu?

JOÃO GRILO: - Falta de respeito nada, rapaz! Isso é o versinho de Canário Pardo que minha mãe cantava para eu dormir. Isso tem nada de falta de respeito!

ENCOURADO (*com raiva surda*): - Lá vem a Compadecida! Mulher que em tudo se mete!”

Trecho de *O auto da Compadecida* - Ariano Suassuna

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Biofilmes	3
2.2. <i>Escherichia coli</i>	5
2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	7
2.4. <i>Salmonella spp.</i>	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1. Origem das amostras	11
3.2. Análises laboratoriais	11
3.2.1. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	12
3.2.2. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	12
3.2.3. Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	13
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1. Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	14
4.2. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	17
4.3. Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	18
5. CONCLUSÕES	19
6. REFERÊNCIAS	20

PESQUISA DE INDICADORES DE BIOFILMES DE *ESCHERICHIA COLI*, *LISTERIA MONOCYTOGENES* E *SALMONELLA SPP.* EM ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS DE BOVINOS E AVES LOCALIZADOS NO DF, ENTORNO E GOIÁS.

RESUMO

Os biofilmes representam uma preocupação à indústria de alimentos pois resistem a tratamentos antimicrobianos e a sanitizantes, além de causarem perda da qualidade, deteriorarem os alimentos e veicularem patógenos. O objetivo deste trabalho foi verificar a presença de indicadores de biofilmes de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves localizados na região do Distrito Federal, Entorno e Goiás. As amostras de swabs foram coletadas de ambientes e equipamentos/utensílios em diferentes pontos da indústria. Foram realizadas seis visitas aos estabelecimentos, onde foi coletado um total de 144 amostras de swabs. Foram detectadas 89 cepas (61,8%) de *E. coli* do total de amostras de swabs, sendo 58/89 cepas (65,2%) isoladas de abatedouros de aves e 31/89 cepas (34,8%) de abatedouros de bovinos. As esteiras e as tubulações que direcionam miúdos foram os locais com maior detecção de cepas nos abatedouros de aves, enquanto nos abatedouros de bovinos foram os ralos da sala de abate e da câmara fria. Todas as cepas de *Listeria monocytogenes* foram detectadas em abatedouros frigoríficos de aves, perfazendo um total de 15/144 (10,4%) das cepas isoladas, sendo as tubulações que direcionam o quarto traseiro das aves, coração, fígado e moela para embalagem os locais mais contaminados. Nenhuma bactéria do gênero *Salmonella* foi encontrada nas instalações e equipamentos de ambos abatedouros frigoríficos. A presença desses microrganismos no ambiente industrial antes da higienização para o início de suas atividades diárias sugere que há formação de biofilmes nas instalações e equipamentos/utensílios coletados, provavelmente devido a falhas na limpeza e podendo resultar na contaminação dos alimentos produzidos nestes locais.

Palavras-chave: biofilmes, contaminação, carnes, abatedouros.

ABSTRACT

Biofilms represent a concern for the food industry due to the resistance to a antimicrobial and sanitizing treatments. Is also a common causing loss of quality, deterioration of food and transmission of pathogens. The aim of this study was to verify the presence of biofilms indicators of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in cattle and poultry slaughterhouses located in Federal District, Entorno and Goiás. The swab samples were collected in the facilities and equipment/ utensils from different points in the industry, six visits were made to the industries and 144 swab samples were obtained. A total of 89/144 strains of *E. coli* (61.8%) were isolated, 58/89 strains (65.2%) isolated from poultry slaughterhouses and 31/89 strains (34.8%) from cattle slaughterhouses. The tables and tubes that direct viscera were the sites with the largest number of strains in poultry slaughterhouses, while in the cattle slaughterhouses the largest number of strains were in the drains of the slaughter room and the cold room. All strains of *Listeria monocytogenes* were detected in poultry slaughterhouses, making a total of 15/144 (10.4%) isolated strains,

the most contaminated spots were the tubes that direct the hindquarters of poultry, heart, liver and gizzard to packaging. The *Salmonella* spp. was not found in the facilities and equipments of the visited slaughterhouses. The presence of these microorganisms in the industrial environment, prior to the hygienization process to start their daily activities, suggests a formation of biofilms in the facilities and equipment/utensils collected, probably due to cleaning failures, which can result in the contamination of the food produced in these places.

Keywords: biofilms, contamination, meat, slaughterhouses.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com dados fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em 2017, o Brasil é um dos principais atores na produção e comércio de carne bovina no mundo, em 2015 consolidou-se com o maior rebanho bovino (209 milhões de cabeças), o segundo maior mercado interno consumidor (38,6 kg/habitante/ano) e o segundo maior exportador (1,9 milhões toneladas equivalente carcaça) de carne bovina do mundo. A indústria possui uma capacidade de abate de quase 200 mil bovinos/dia e está continuamente evoluindo e aprimorando o bem-estar animal e a segurança higienicossanitária dos produtos para garantir a competitividade e a abrangência de mercado (EMBRAPA, 2017).

Assim como a bovinocultura, a avicultura brasileira é altamente produtiva devido a diversos investimentos nas áreas de genética, nutrição, manejo, biossegurança e à implementação de programas de qualidade que incluem o bem-estar animal e a preservação do meio ambiente (ABPA, 2016). O Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná (SINDIAVIPAR) forneceu dados sobre a exportação brasileira no ano de 2016, segundo esses dados 4,3 milhões de toneladas de carne de frango foram exportadas, fazendo com que o Brasil ficasse a frente da China e dos Estados Unidos, tornando-se o maior exportador de carne de frango em 2016.

A globalização e o aumento da conscientização dos consumidores fizeram com que a procura por alimentos de alta qualidade microbiológica crescesse (BEZZERA & MARTINS, 2008). A condição higienicossanitária do ambiente industrial é um fator essencial para produção e comercialização de alimentos que sejam seguros e de qualidade, já que as carnes e os produtos cárneos estão diretamente envolvidos no acontecimento das Doenças Transmissíveis por Alimentos (DTA's) por advirem de animais que possuem diversos microrganismos em sua microbiota natural, podendo assim contaminar as carcaças durante o processo de abate ou serem contaminadas por microrganismos carreados pelos manipuladores, utensílios e água (MATSUBARA, 2005; LUNDGREN *et al.*, 2009).

Por essa razão o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), implementou o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênicas-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimento (BRASIL, 1997) e o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de

Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1952) que propõem a padronização métodos de elaboração de produtos de origem animal e a obtenção de carnes com qualidade microbiológica e tecnológica mínimas para serem aceitáveis e seguras ao consumidor. Todas as partes do processamento devem ser monitoradas, a fim de reduzir a contaminação inicial, prevenir ou limitar a multiplicação dos microrganismos e eliminar a presença de possíveis patógenos (NERO, 2005).

Entre os principais microrganismos causadores de DTA's temos a *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella sp.*, *Yersinia sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* e o *Vibrio sp.* (OLIVEIRA *et al.*, 2010.)

Dentre essas bactérias, já foi amplamente documentado a presença da *Escherichia coli* como causadora de doenças gastrointestinais, Síndrome Hemolítico-Urémico e da Púrpura Trombocitopênica Trombótica (ALVES, 2012). Surtos de listeriose foram causados pela *Listeria monocytogenes*, sendo esse microrganismo relevante pela capacidade de provocar abortos (WHO/FAO, 2006). A *Salmonella spp.* também se destaca entre as bactérias, pois além da gastroenterite provocada pela salmonelose, pode causar infecção e levar ao óbito caso não seja tratada adequadamente com antibioticoterapia (MENDONÇA, 2016).

Atualmente o desafio no abate e processamento das carnes não é apenas evitar a contaminação direta por essas bactérias, mas também a contaminação cruzada dos produtos cárneos durante sua industrialização (RODRIGUES, 2009; LEMOS, 2002).

Os biofilmes bacterianos representam uma preocupação na indústria de alimentos, podem ser definidos como uma comunidade complexa e estruturada de microrganismos, envoltos por uma matriz extracelular de exopolissacarídeos que é produzida pelos próprios microrganismos associados entre si e que aderem-se a uma superfície biótica ou abiótica (COSTERNON *et al.*, 1999). Esses microrganismos se glutinam ao redor de resíduos de matéria orgânica ou inorgânica quando está ocorrendo erros na limpeza e sanitização do sistema de abate, o biofilme formado pode provocar contaminação cruzada nos alimentos que estão em contato com as superfícies contaminada, a diminuição da qualidade dos alimentos, a veiculação

patógenos ao homem e são fonte recorrente de contaminação (KASNOWSKI *et al.*, 2010; MARTINS, 2013).

Considerando o exposto a respeito da importância do fornecimento de alimentos inócuos ao consumidor, da relevância da *E. coli*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. para a saúde pública, e que uma possível fonte de contaminação das carnes e dos produtos cárneos por esses microrganismos são os biofilmes que se formam nas superfícies de contato mal higienizadas das indústrias, o presente trabalho teve por objetivo detectar a presença de indicadores de biofilmes de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves localizados no Distrito Federal, Entorno e Goiás.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Biofilmes

De acordo com OLIVEIRA *et al.* (2010) a definição simplificada para biofilmes seria um conjunto de microrganismos envoltos por uma matriz de polímeros extracelulares que estão aderidos a uma superfície, podendo aglutinar-se onde há resíduos orgânicos e inorgânicos, por isso é comum serem encontrados nas superfícies dos equipamentos e utensílios das indústrias de alimentos, se a higienização da mesma for falha. A adesão bacteriana acontece de maneira complexa, sendo uma interação que tem como seus principais componentes a bactéria, o microambiente no qual elas estão e a superfície de contato biótica ou abiótica (DAROUICHE, 2001). Quando ocorre a acumulação de matéria orgânica ou inorgânica as comunidades bacterianas encontram condições propícias ao seu desenvolvimento, caracterizando a presença de biofilmes no local de processamento de alimentos (JOSEPH *et al.*, 2001).

Segundo LEMOS (2002), para que um biofilme seja formando é necessário que hajam erros durante a higienização e sanitização do sistema de duas a quatro semanas. Podem existir biofilmes em diversos tipos de substratos, como o aço inox, vidro, borracha, polipropileno, fórmica, ferro, poliestileno de baixa densidade e policarbonato, é necessário destacar que quando exposto ao calor pode cristalizar-se

e formar depósitos ou crostas extremamente aderentes, o que protege novos microrganismos e dificulta mais ainda o processo de higienização (PARIZZI, 2004). As substâncias poliméricas extracelulares (EPS) associadas aos biofilmes não são retiradas durante limpeza, o que por consequência aumenta a probabilidade de sobrevivência dos microrganismos e a de contaminação dos alimentos, já que os microrganismos presentes no interior do biofilme não sofrem a ação dos desinfetantes (MARTINS, 2013). Ainda segundo a autora (MARTINS, 2013), as EPS são o local de ligação e onde ocorre a nutrição para os microrganismos que são novos ao sistema.

Os biofilmes representam uma preocupação quando falamos em saúde pública, a contaminação cruzada entre essas superfícies de contato e o alimento reduz a qualidade higienicossanitária do produto e pode ocasionar surtos de toxiinfecção alimentar nos consumidores. (ALI *et al.*, 2006; MORETRO *et al.*, 2012).

Quanto a economia, os biofilmes representam prejuízos à indústria, pois sua atuação como camadas isolantes levam a corrosão microbiologicamente induzida (SHAKERI *et al.*, 2007; SHI & ZHU, 2009; STEPANOVIC *et al.*, 2003). Esta corrosão afeta a transferência de calor entre as superfícies e dependendo de sua espessura pode prejudicar as placas permutadoras de calor (BAYOUMI *et al.*, 2012; SHI & ZHU, 2009). Podem ocasionar a redução na eficácia de produção, gerar odores desagradáveis, obstruir tubagens, gerar falhas no equipamento, nos sistemas de água e nas torres arrefecimento (NGUYEN & YUK, 2013; SHI & ZHU, 2009; SPERANZA *et al.*, 2011). Leva ainda a uma diminuição da vida útil dos equipamentos, maior consumo de energia, maiores despesas de manutenção e diminuição na qualidade do produto (DIÉZ-GARCÍA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

O entendimento da formação dos biofilmes microbianos e de aspectos intrínsecos a sua estrutura e composição são essenciais para a elaboração de métodos efetivos de controle e compreensão dos riscos para as indústrias de alimentos, no que concerne aos métodos efetivos de controle, falamos sobre a aplicação de um processo de higienização eficiente que compreenda a limpeza, sanitização e que ocorra sem erros (OLIVEIRA, 2011). O processo de higienização nos abatedouros resume-se no uso de água quente, detergentes e sanitizantes, e mesmo que a água quente e os detergentes possam atenuar a carga bacteriana presente nas superfícies através da retirada dos resíduos orgânicos, é de extrema

necessidade que ocorra a sanitização para que haja a redução da carga microbiana a níveis seguros e obtenha-se um alimento de alta qualidade e boas condições higiênicas e sanitárias (RODRIGUES, 2009).

No abate e processamento o desafio é evitar a contaminação cruzada dos produtos cárneos durante sua industrialização, já foi relatado que a porcentagem de amostras de aves contaminadas com *Salmonella* spp. se eleva de maneira significativa no decorrer do processamento devido às bactérias nas superfícies que estão em contato com os alimentos (RODRIGUES, 2009; DIÉZ-GARCÍA *et al.*, 2012). Via de regra, para que as recomendações de qualidade microbiológica sejam cumpridas, a adoção de programas de limpeza e sanitização efetivos, a utilização de matéria-prima de qualidade e o emprego de práticas higienicossanitárias por parte dos funcionários da indústria são imprescindíveis (OLIVEIRA *et al.*, 2010). O uso de instrumentos de controle de qualidade são essenciais, dentre eles é necessário reforçar o valor das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), que são pré-requisitos do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) pois indicam os princípios básicos de higiene industrial, destacando a maneira correta de higienizar as instalações, os equipamentos e utensílios que estão em contato com os alimentos durante o seu processamento (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

2.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* pertence à família *Enterobacteriaceae*, é uma bactéria anaeróbica facultativa e faz parte microbiota intestinal de animais e humanos (PIATTI & BALDASSI, 2007). Normalmente o trato gastrointestinal do hospedeiro é colonizado logo depois do nascimento, a *E. coli* se torna um importante componente da microbiota natural do intestino durante a vida e passa a ser eliminada nas fezes (MOREIRA, 2007). Também é caracterizada como um bastonete Gram-negativo, não esporulado, oxidase negativo, fermentador de açúcares e móvel por flagelos peritríquios (MOREIRA, 2007; KASNOWSKI, 2004). Mesmo fazendo parte da microbiota humana e animal, algumas cepas adquiriram fatores de virulência através

de transferência horizontal e tornaram-se patogênicas, assim podem originar infecções intestinais e extra-intestinais que representam um risco a saúde pública (NATARO; KAPER, 1998). Entre as bactérias gram negativas, a *Escherichia coli* se destaca por estar associada a diversas doenças, a sua patogenicidade é estabelecida de acordo com a colonização no organismo do hospedeiro, sua capacidade de penetrar em mucosas e de inibir os mecanismos de defesa presentes no hospedeiro, por esses motivos a infecção ocasionada pela *E. coli* é a segunda causa mais comum que necessita de hospitalização a nível mundial (NAVEEN, 2005; MELLATA *et al.*, 2003). Sendo que uma das formas mais comuns de infecção é através da ingestão de alimentos contaminados por matéria fecal, podendo conter toxinas que colonizam o epitélio intestinal e lesam diretamente a mucosa do hospedeiro (BOLAND *et al.*, 2000; CORNICK & HELGERSON, 2004; CADONA *et al.*, 2013).

No que diz respeito a indústria de alimentos, a presença da *E. coli* é indicadora de contaminação fecal e revela os erros no tratamento e na manipulação dos alimentos, por isso é usada para avaliar as condições higiênicas e sanitárias dos produtos e monitorar a qualidade dos mesmos (SOUSA, 2006). A propagação desse patógeno nas indústrias de carnes é um risco a segurança alimentar, a necessidade de uma esfola, evisceração e higienização eficientes está justamente no fato de atenuarem essa contaminação das carcaças (RIGOBELLO *et al.*, 2006). A eliminação desse microrganismo da linha de processamento é algo difícil devido a capacidade de formação de biofilmes, isso reforça a preocupação além dos Pontos Críticos de Controle na indústria durante o processamento, pois a contaminação cruzada por biofilmes representa um risco extra na produção de carnes (BORCH & ARINDER, 2002; STOCCO *et al.*, 2017).

Por constituir um risco à saúde pública, temos sancionado o Programa de *Escherichia coli* verotoxigênica em carne bovina (BRASIL, 2015) que faz parte do Programa Nacional de Controle de Patógenos e regulamenta os procedimentos de coleta e análise de *Escherichia coli* verotoxigênica em carne bovina.

2.3. *Listeria monocytogenes*

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria anaeróbia facultativa, não formadora de esporos, apresenta mobilidade devido a flagelos e possui movimentação característica de tombamento ou turbilhonamento, é positiva para catalase e negativa para oxidase (FRANCO & LANDGRAF, 1996). LAKE *et al.* (2002) reiteram a capacidade que esse patógeno possui de manter-se ativo por muito tempo em ambientes secos, seu crescimento se dá tanto em condições microaerófilas, quanto em condições aeróbicas e anaeróbicas, podendo ser inativada em temperaturas de 70°C e em pH menores que 4,4. Pode ser encontrada em muitos habitats, desde a microbiota de animais silvestres e ruminantes a seres humanos sadios, pode naturalmente fazer parte de ambientes e fontes ambientais, como silagem, solo, fertilizantes e vegetais em decomposição (TRABULSI, 1999).

Para a saúde pública a listeriose é um problema significativo, destacam ainda a importância da *L. monocytogenes* na ocorrência de surtos, devido suas características de sobrevivência, taxa de crescimento e a sua patogenicidade (VASCONCELOS & MARIN, 2008). Alguns indivíduos são mais susceptíveis as infecções por *L. monocytogenes*, entre eles estão os que apresentam imunocomprometimento causado por doenças, indivíduos idosos, mulheres grávidas, recém-nascidos ou fetos (GASANOV, 2005). O nível reduzido da acidez gástrica é pertinente para grau de susceptibilidade do indivíduo à listeriose, dado que o uso de antiácido é considerado um fator de risco (WHO/FAO, 2006). É importante destacar que em mulheres grávidas, além manifestação clínica padrão, pode haver aborto espontâneo no primeiro trimestre da gravidez ou nascimento prematuro e/ou neonato doente (WHO/FAO, 2006). A relevância da listeriose entre as doenças de origem alimentar ocorre devido aos indivíduos dos grupos de risco estarem expostos a listeriose em sua forma invasiva que pode agravar-se em septicemias, encefalites, meningites e tem altos índices de mortalidade (BARROS, 2005).

Já foi comprovada a capacidade da *L. monocytogenes* formar biofilmes sobre materiais normalmente utilizados em indústrias de alimentos, visto que desde 1980 é documentado a ocorrência de vários casos isolados e de surtos de listeriose conectados a ingestão de alimentos contaminados (BARROS, 2005). Com a finalidade de prevenir infecções por *Listeria monocytogenes* de origem alimentar,

o local do processamento do alimento deve ser extremamente controlado, visto que tratamos de uma bactéria ubiqüitária que se desenvolve em uma grande faixa de temperatura e pH (FRANCO & LANDGRAF, 1996). Nos abatedouros frigoríficos temos diversos reservatórios potenciais de *Listeria* spp., entre eles estão as superfícies de equipamentos, as substâncias selantes impermeáveis, cintas transportadoras e ralos (LADO & YOUSEF, 2007). Por isso na indústria alimentar é necessário estar atento a presença de possíveis cepas que são persistentes, fazendo com que a *L. monocytogenes* permaneça de meses à anos no ambiente de processamento, provocando a ocorrência de contaminações alimentares recorrentes (MARKKULA *et al.*, 2005).

A eliminação desse microrganismo não ocorre de maneira fácil, pois as condições de umidade, temperatura e a presença de matéria orgânica nas plantas de processamento potencializam a proliferação e a colonização de superfícies de equipamentos e utensílios industriais (UHITIL *et al.*, 2004). CASELANI (2013) analisou amostras ambientais de um abatedouro frigorífico de bovinos em São Paulo e detectou amostras positivas para *Listeria monocytogenes* em todos os meses coletados, o que corrobora com a afirmação de persistência no ambiente uma vez que o microrganismo se instala e com a capacidade de permanência de vários meses no processamento de alimentos como fonte recorrente de contaminação no produto final.

Para tanto, identificar os pontos de origem da matéria-prima e controlá-los com medidas preventivas ou que atenuem a possibilidade de contaminação é a maneira mais eficaz de minimizar a presença desse microrganismo (FRANCO & LANDGRAF, 1996). Ainda segundo os autores, medidas como a limpeza e sanitização dos equipamentos, a construção da indústria de maneira que não adentrem animais e poeira, e impedir que o produto final tenha contato com a matéria-prima são essenciais para prevenir a contaminação cruzada.

Diversos países determinam a quantidade de microrganismos permitidos em alimentos, leis específicas regem principalmente os produtos que são prontos para consumo (JAY, 2005). No Brasil, temos a Resolução RDC nº12 da ANVISA (BRASIL, 2001) que reconhece a *L. monocytogenes* como um patógeno de importância nos alimentos e estabelece que este patógeno precisa estar ausente em 25 g de amostra para que alimento seja próprio para consumo. Ainda temos a Instrução Normativa (IN)

nº 9 (BRASIL, 2009) que instituiu os procedimentos de controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo e a Norma Interna DIPOA/SDA nº 1 (BRASIL, 2013) que estabelece procedimentos operacionais complementares a IN nº 9 de 2009. Os produtos que possuem resultados acima dos limites estabelecidos por lei após serem analisados ou a presença de patógenos e toxinas que são um risco a saúde do consumidor, são considerados em condições sanitárias insatisfatórias e não devem ser comercializados (MANTILLA, 2007). SILVA (2009) cita na conclusão de seu trabalho o quão importante é o serviço de inspeção sanitária nas fábricas, distribuidoras e locais de comercialização de alimentos que estejam sob suspeitas, para que seja averiguadas as condições higienicosanitárias e fornecidas garantias de um produto de qualidade.

2.4. *Salmonella* spp.

A *Salmonella* spp. é um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo, não encapsulado e não esporulado, possui ampla disseminação na natureza, diversos tipos de reservatórios, tendo o homem e os animais entre eles, e sua transmissão comumente é feita através da ingestão de alimentos contaminados (JAY, 2000; GARVALHO, 2000). É parte da família *Enterobacteriaceae*, que tem como característica a resistência a fatores ambientais, pH ótimo entre 7,0 e 7,5, e capacidade de formar ácido e gás a partir da fermentação de glicose (BRASIL, 2011). Podem ser classificadas de acordo com a especificidade do hospedeiro e do seu padrão clínico, logo temos as altamente adaptadas ao homem, as altamente adaptadas aos animais e as zoonóticas, essas representam os sorovares que atingem tanto ao homem quanto aos animais e são causadoras das gastroenterites ou das DTAs (BRASIL, 2011).

Os imunodeficientes estão susceptíveis a infecções de extrema gravidade, já tendo sido documentado que 20% a 60% dos pacientes com bacteremia e que são portadores do vírus HIV relataram infecção gastrointestinal prévia (BRASIL, 2011). Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), a virulência da *Salmonella* spp. inclui vários fatores, como a mobilidade, capacidade de penetração e replicação nas células do epitélio, resistência ao sistema do complemento e produção de toxinas.

Dentre as zoonoses, a salmonelose tem uma epidemiologia bastante complexa, seu controle é laborioso devido às diferenças regionais nos hábitos alimentares, no processamento de alimentos, no saneamento e na higiene, por isso ocorre a reemergência de alguns sorovares e a emergência de outros em diferentes locais (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 1988; MCEWEN & FEDORKA-CRAY, 2002). Índices expressivos de morbidade e de mortalidade estão relacionados a *Salmonella* spp. em nações desenvolvidas e emergentes, devido a surtos alimentares causados por essa bactéria em ovos, carne e produtos lácteos (BRASIL, 2011). Esses surtos podem ser resultados de erros de manuseio, de um transporte em condições inadequadas de temperatura/higiene e desobediência dos critérios básicos de higienização (BRASIL, 2011).

O nível de contaminação por *Salmonella* spp. nas granjas e abatedouros dependem ainda de vários fatores de risco, incluindo estação do ano, fábricas de rações, diversas medidas de higiene e o manejo dos animais, e podem haver animais portadores assintomáticos capazes de infectar outros animais durante o transporte e espera para o abate. Na indústria de aves é no ambiente do abate que ocorre a fonte mais relevante de propagação desse microrganismo, visto que é inevitável a contaminação fecal das carcaças e o grau de contaminação depende das técnicas de abate aplicadas (CARDINALE *et al.*, 2004). A habilidade dessa bactéria em formar biofilmes, sobreviver e multiplicar-se em baixas temperaturas e dificuldade na sua remoção também acentua a sua presença no ambiente industrial (JOSEPH *et al.*, 2001; D'AOUST, 1991).

Trabalhos como o de FUZIHARA *et al.* (2000) comprovam isso, pois foi encontrado este microorganismo em utensílios, superfícies de refrigeradores e congeladores em abatedouros na região de SP. De acordo com estudo realizado por WELKER *et al.* (2010) no Rio Grande do Sul, a *Salmonella* foi o principal agente isolado de produtos alimentícios, em especial os produtos cárneos, que estão envolvidos em surtos alimentares nos anos de 2006 e 2007. Mesmo com os dados obtidos a respeito dos surtos de toxinfecção alimentar causados por *Salmonella* spp., existem motivos para acreditar na sua subnotificação e subdiagnóstico, em virtude da falta de conhecimento e dos sintomas que são comuns a outras patologias (CARDOSO & CARVALHO 2006). Além disso, diversos casos suspeitos não são iden-

tificados por não precisarem de internação, o agente não é isolado e poucos municípios possuem registros a respeito dos casos de salmoneloses, colaborando para que a verdadeira incidência seja desconhecida (BRASIL, 2002; VAN AMSON *et al.*, 2006).

Como a presença de microrganismos formadores de biofilmes nas indústrias de alimentos ainda é motivo de atenção e dado as falhas que podem existir no processo de higienização, o MAPA estabeleceu através da IN nº 70 (BRASIL, 2003) o Programa de Redução de Patógenos do Ministério da Agricultura e Abastecimento, que propõe a inspeção minuciosa do processo de abate, para termos garantia de higiene e segurança alimentar nos diversos passos do produção. Além desta legislação, existe a IN nº 20 (BRASIL, 2016) que controla e monitora a *Salmonella* spp. na cadeia de produção de frangos e perus, visando reduzir sua prevalência para que o consumidor esteja protegido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Origem das amostras

Foram coletadas amostras de swabs em abatedouros frigoríficos de bovinos e abatedouros frigoríficos de aves localizados na região do Distrito Federal, Entorno e Goiás. Ao todo foram realizadas seis visitas às indústrias, obtendo-se um total de 144 amostras entre o período de agosto de 2017 e março de 2018, sendo 54 amostras de swabs de abatedouros bovinos e 90 de abatedouros de aves. Os pontos escolhidos para a realização da coleta dos swabs das superfícies seguiram o protocolo descrito por BARROS (2005), sendo as amostras das instalações (pisos, paredes e ralos de câmaras frias e linha de abate) e de equipamentos/utensílios (as plataformas, mesas, rolo de esfolia, serras, ganchos, facas, caixas plásticas e maquinários). A técnica utilizada para colheita de amostras foi o esfregão de superfície com swabs em água peptonada 0,1%, utilizando-se moldes estéreis de 50 cm² e de 30 cm², sendo realizada antes de iniciarem as atividades diárias das indústrias e dos procedimentos de higienização pré-abate. Posteriormente as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LAMAL) da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Bra-

sília onde foram analisadas em um prazo inferior a 24 horas após a coleta para o isolamento microbiológico.

3.2. Análises laboratoriais

3.2.1. Pesquisa de *Escherichia coli*

Para a realização do isolamento e identificação de *E. coli* foi utilizado-se protocolo descrito por SANDRINI *et al.* (2007). Os swabs foram transferidos dos tubos contendo água peptonada (Himedia®) 0,1% para tubos contendo 9 mL de água peptonada tamponada (Acumedia®) a 1% e incubados à 37° por 24 horas em estufas bacteriológicas (Quimis®), sendo posteriormente transferidas para o Ágar Eosina Azul de Metileno da marca Acumedia® através de plaqueamento de superfície e posteriormente incubadas a 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica, observando o crescimento de colônias típicas de *E. coli* (colônias pretas-azuladas com ou sem reflexo verde metalizado). Aproximadamente três UFC com características morfológicas de *E. coli* foram repicadas em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (Acumedia®) e incubadas à 37° por 18-24 horas. As colônias sugestivas foram submetidas à prova bioquímica de produção de Indol.

3.2.2. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A metodologia de pesquisa e isolamento e utilizada foi a preconizada pela IN n°40 (BRASIL, 2005) para pesquisa e isolamento microbiológico de *Listeria monocytogenes*. Os swabs mergulhados em água peptonada (Himedia®) a 0,1% foram transferidos para tubos contendo 9 mL de água peptonada tamponada (Acumedia®) a 1% e incubados em estufa bacteriológica (Quimis®) à 37° por 24 horas, sendo posteriormente transferidos 1 mL dessa solução para 9 mL de caldo UVM (Acumedia®) para incubação a 35° por 24 horas. Em seguida transferiu-se 0,1mL do caldo UVM para 10mL de caldo Fraser (Acumedia®), incubados a 35°C por 24h. Em seguida, os tubos de caldo Fraser que apresentavam hidrólise da esculina foram plaqueados com auxílio de uma alça de níquel-cromo por esgotamento em estrias para uma placa de ágar MOX (Difco®), incubadas em seguida a 35°C por 24h. As colônias pequenas e com halo de hidrólise de esculina foram colhidas e transferi-

das para caldo Brain Heart Infusion (BHI) da marca Difco® e incubadas à 37°C por 18-24 horas. Realizou-se o teste de turbilhonamento com gotícula retirada do caldo BHI, coloração gram e teste da catalase. Para a identificação e confirmação da *L. monocytogenes*, foi utilizada a técnica de análise de Reação de Polimerase em Cadeia (PCR), descrita por PAILLARD *et al.* (2003) e ROCHA *et al.* (2014). Os controles positivos para a padronização do procedimento foram cepas para controles cedidas gentilmente pela Fundação Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro.

3.2.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A metodologia para a análise das amostras foi semelhante à descrita por EWERS *et al.* (2005), onde os swabs de superfície que se encontravam em água peptonada (Himedia®) a 0,1% foram transferidos para tubos contendo 9 mL de água peptonada tamponada (Acumedia®) a 1% e incubados em estufa bacteriológica (Quimis®) à 37° por 24 horas, sendo posteriormente transferidos 1 mL dessa solução para 10 mL de caldo Selenito Cistina (Merck®) e 0,1 mL para 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (Fluka®), incubados em estufa bacteriológica (Fanem®) à 42°C por 24 horas. Em seguida, com auxílio de uma alça de níquel-cromo, os caldos supracitados foram plaqueados por esgotamento em estrias em meio seletivo Ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol (BPLS) da marca Acumedia®, novamente incubados à 37° por 24 horas. Aproximadamente três UFC com características morfológicas de *Salmonella* spp. foram repicadas em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (Acumedia®) e incubados à 37° por 18-24 horas. Os tubos de TSI com crescimento sugestivo de *Salmonella* foram submetidos aos testes bioquímicos indicados no Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. (BRASIL, 2011), sendo eles a hidrólise da uréia, fenilalanina desaminase, pesquisa da produção de indol, prova de Voges-Proskauer (VP), prova do Vermelho de Metila (VM), lisina descarboxilase e utilização do citrato. Foi realizada a técnica de análise de Reação de Polimerase em Cadeia (PCR) para identificação e confirmação da *Salmonella* spp. Os controles positivos para a padronização do procedimento foram cepas para controles cedidas gentilmente pela Fundação Oswaldo Cruz - Rio de Janeiro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Pesquisa de *Escherichia coli*

Das 144 amostras de swabs obtidas nas instalações dos abatedouros frigoríficos, foram isoladas um total de 89 cepas de *E.coli* (61,8%), sendo 58/89 cepas (65,2%) isoladas de abatedouros de aves e 31/89 cepas (34,8%) de abatedouros de bovinos. Em relação aos pontos de detecção de biofilmes nas instalações e equipamentos/ utensílios, foram encontradas nos abatedouros de aves 17/58 (29,3%) cepas de *Escherichia coli* nas tubulações que direcionam miúdos, 17/58 (29,3%) cepas nas esteiras, 15/58 (25,9%) cepas nos ralos da sala de abate, 6/58 (10,34%) cepas nas mesas de evisceração, 2/58 (3,44%) nas paredes da sala de abate 1/58 (1,72%) cepa nos ganchos de pendura. Os resultados de pesquisa de *E. coli* nas instalações e nos equipamentos/ utensílios, obtidas para cada visita nos abatedouros frigoríficos de aves encontram-se dispostos na Tabela 1.

TABELA 1. Pesquisa de *E. coli* em instalações e equipamentos/ utensílios em abatedouros frigoríficos de aves localizados na região do Distrito Federal, Entorno e estado de Goiás.

Abatedouros frigoríficos de aves	Visita 1 n de swabs =15	Visita 2 n de swabs=25	Visita 3 n de swabs=25	Visita 4 n de swabs=25	Total de cepas de <i>E. coli</i>
Esteiras	3	1	7	6	17 (29,3%)
Tubulações	1	6	6	4	17 (29,3%)
Ralos	2	2	4	7	15 (25,9%)
Mesas de evisceração	-	2	2	2	6 (10,34%)
Paredes	-	1	-	1	2 (3,44%)
Gancho	-	-	-	1	1 (1,72%)
Total	6	12	19	21	58

Já nos abatedouros de bovinos, foram detectadas 8/31 (25,8%) cepas de *Escherichia coli* nos ralos da sala de abate e da câmara fria, 7/31 (22,58%) cepas nas mesas de evisceração, 5/31 (16,13%) cepas nas paredes da sala de abate e da sala de graxaria, 5/31 (16,13%) cepas nos ganchos de pendura, 3/31 (9,68%) cepas nas serras de carcaças, 2/31 (6,45%) cepas nas caixas de transporte de miúdos e 1/31 (3,23%) cepa nas tubulações que direcionam resíduos não comestíveis para a graxaria. Os resultados de pesquisa de *E. coli* nas instalações e nos equipamentos/ utensílios, obtidas para cada visita nos abatedouros frigoríficos de bovinos encontram-se dispostos na Tabela 2.

TABELA 2. Pesquisa de *E. coli* em instalações e equipamentos/ utensílios em abatedouros frigoríficos de bovinos.

Abatedouros frigoríficos de bovinos	Visita 1 n de swabs=20	Visita 2 n de swabs=34	Total de cepas de <i>E. coli</i>
Ralos	2	6	8 (25,8%)
Mesas	-	7	7 (22,58%)
Paredes	2	3	5 (16,13%)
Ganchos de pendura	2	3	5 (16,13%)
Serras	2	1	3 (9,68%)
Caixa de transporte de vísceras	1	1	2 (6,45%)
Tubulações	-	1	1 (3,23%)
Total	9	22	31

Para este trabalho foi considerado como ponto com indicação de formação de biofilme aqueles que apresentaram crescimento do microrganismo no ambiente e equipamentos/utensílios. Assim sendo, verificou-se que nos abatedouros de aves as

esteiras foram as mais contaminadas com o microrganismo *E.coli*, perfazendo 17/58 (29,3%) cepas detectadas e as tubulações que direcionam miúdos mostraram a mesma contaminação e perfizeram 17/58 (29,3%) cepas detectadas, foram seguidas pelos ralos das salas de abate 15/58 (25,9%) cepas, mesas de evisceração 6/58 (10,34%) cepas, paredes da sala de abate 2/58 (3,44%) cepas e dos ganchos de pendura 1/58 (1,72%) cepa. Nos abatedouros de bovinos, dentre as superfícies que possuem contato direto com as carnes bovinas, as mesas de evisceração apresentaram a maior contaminação, perfazendo 7/31 (22,58%) cepas detectadas, seguidas pelas serras 3/31 (9,68%) cepas, as caixas que transportam vísceras 2/31 (6,45%) cepas e tubulações que direcionam resíduos não comestíveis para a graxaria com 1/31 (3,23%) cepa.

No Brasil existem poucos trabalhos relacionados à presença de biofilmes em equipamentos/utensílios nos abatedouros frigoríficos de aves e de bovinos, normalmente os trabalhos publicados estão relacionados à contaminação das carcaças das espécies domésticas propriamente ditas (MATIAS, 2008; SANTOS *et al.*, 2017; SILVA, 2002). Na região Centro-Oeste do Brasil este foi o primeiro estudo de verificação da presença de biofilmes de *E. coli*, *Listeria monocytogenes* e *Sallmonella* spp. em abatedouros de aves e bovinos.

Entres os poucos trabalhos brasileiros realizados sobre biofilmes em superfícies nas indústrias, está o de KRASZCZUK (2010) que verificou o processo de higiene pré-operacional em um abatedouros de aves no Rio Grande do Sul e, assim como foi constatado por este trabalho, confirmou a presença de microrganismos mesófilos, entre eles a *E. coli*, nas superfícies de contato com a carne, o que apontava falhas na higienização pré-operacional.

Todavia a presença da bactéria *Escherichia coli* nas carcaças estudadas pela maioria dos autores, sugere uma possível contaminação ambiental por esse microrganismo. Exemplo disso é o trabalho realizado por MATIAS (2008) que verificou a presença de *E. coli* nas carcaças de aves de abatedouros em Minas Gerais durante seu abate, evisceração e resfriamento. Estudo realizado por SANTOS *et al.* (2017) também constataram a presença de coliformes fecais em meias carcaças provenientes de abatedouros bovinos do Distrito Federal e Entorno, já SILVA (2002)

verificou a presença de *E. coli* em 41/100 (41,0%) das carcaças bovinas avaliadas no Estado do Paraná.

4.2. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Foram isoladas 15 (10,4%) cepas de *Listeria monocytogenes* das 144 amostras de swabs das instalações de abatedouros frigoríficos de aves e bovinos, porém todas as cepas de *L. monocytogenes* foram encontradas em abatedouros frigoríficos de aves. Em relação aos pontos de detecção de biofilmes nas instalações e equipamentos/utensílios, foram encontradas nos abatedouros de aves 5/15 cepas (33,33%), 3/15 (20%) cepas nas mesas de evisceração, 3/15 (20%) cepas nos ralos da sala de abate e da câmara fria, 3/15 (20%) cepas nas esteiras e 1/15 (6,67%) cepa nas paredes da sala de abate. Os resultados de pesquisa de *Listeria monocytogenes* nas instalações e nos equipamentos/utensílios, obtidas nas visitas aos abatedouros frigoríficos de aves, encontram-se dispostos na Tabela 3.

TABELA 3. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em instalações e equipamentos/ utensílios em abatedouros frigoríficos de aves.

Abatedouros frigoríficos de aves	Visita 1 n de swabs=15	Visita 4 n de swabs=25	Visita 5 n de swabs=25	Visita 6 n de swabs=25	Total de cepas de <i>Listeria monocytogenes</i>
Tubulações	-	-	2	3	5 (33,33%)
Ralos	-	1	1	1	3 (20%)
Mesas de evisceração	-	1	-	2	3 (20%)
Esteiras	-	-	3	-	3 (20%)
Paredes	-	-	-	1	1 (6,67%)
Total	-	2	6	7	15

No Estado de São Paulo, CHIARINI (2007) avaliou a presença do gênero *Listeria* em abatedouros de aves e detectou que 155/851 (17,6%) pontos coletados nas instalações e equipamentos/ utensílios apresentaram crescimento de *Listeria monocytogenes*. Os pontos avaliados foram semelhantes aos avaliados neste trabalho, sendo eles as esteiras transportadoras de carcaças, ganchos da nória da evisceração e da sala de cortes, esteiras da sala de cortes, máquina de corte e outros. CHIARINI (2007) também constatou que a detecção da *Listeria monocytogenes* foi menor nas superfícies que não entravam em contato com os alimentos, quando comparada a superfícies de contato direto, como esteiras e ganchos. O mesmo foi constatado por este trabalho, visto que a menor porcentagem de contaminação foi encontrada nas paredes, que são superfícies sem contato direto com a carne de frango.

Mesmo não tendo detectado a presença do microrganismo *Listeria monocytogenes* nos abatedouros de bovinos neste estudo, não podemos afirmar a sua ausência no ambiente industrial, dado o pequeno número amostral. Sendo assim, maiores estudos devem ser conduzidos para verificar a real presença do microrganismo *Listeria monocytogenes* nos abatedouros de bovinos.

4.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Nenhuma bactéria do gênero *Salmonella* foi encontrada nas instalações e equipamentos dos abatedouros frigoríficos de aves e de bovinos, porém a ausência de sua detecção nesse estudo não permite afirmar a sua inexistência nos ambientes industriais visitados.

Outras pesquisas comprovaram sua presença em carcaças de aves e bovinos (SANTOS *et al.*, 2015; LOPES, 2011). Estes autores detectaram o patógeno nas carcaças e em pontos do fluxograma de abate de frangos de corte e em 13/600 (2,16%) carcaças de bovinos oriundas de um abatedouro de exportação em São Paulo, respectivamente.

A não detecção deste microrganismo no ambiente industrial estudado pode ter ocorrido devido à pequena quantidade de amostra realizadas, sendo necessário um

maior número de swabs de superfície para que se verifique a real presença do microrganismo. Além da pequena quantidade amostral, também podemos especular que uma possível razão para a não detecção do microrganismo nos abatedouros de aves, sejam resultados oriundos da implantação do Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994), o Programa de Redução de Patógenos em carcaças de frango em abatedouros com SIF que foi estabelecido pela IN n° 70 (BRASIL, 2003) e a IN n° 20 (BRASIL, 2016) que implementou a análise laboratorial sistemática e contínua para pesquisa de *Salmonella spp.* em carcaças de frangos e perus "in natura". Todas essas legislações buscam controlar a presença desse patógeno no ambiente industrial e proteger o consumidor.

Logo, maiores estudos devem ser realizados para que seja possível afirmar a real presença da *Salmonella spp.* em abatedouros frigoríficos de bovinos e aves na região do Distrito Federal, Entorno e Goiás.

5. CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados deste estudo, pode-se verificar a presença da *E. coli* nos abatedouros de aves e bovinos, e da *Listeria monocytogenes* em abatedouros de aves. A presença desses microrganismos no ambiente industrial antes da higienização para o início de suas atividades diárias sugere que há formação de biofilmes nas instalações e equipamentos/utensílios coletados, mesmo após rigorosa higienização ao término dos trabalhos. Os resultados também sugerem que falhas na limpeza do ambiente estejam ocorrendo, contribuindo para a presença dos biofilmes e potencialmente podendo contaminar as carnes e os produtos cárneos produzidos nestes locais. A não detecção de cepas de *L. monocytogenes* em abatedouros bovinos e de *Salmonella spp.* em ambos os abatedouros, não significa sua ausência nesses ambientes, sendo necessário que maiores estudos sejam realizados para comprovar sua real presença.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, R.F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Protocolo de Bem-Estar para Frangos de Corte**. São Paulo, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Relatório anual: Perfil da pecuária de corte no Brasil**. Brasil, 2017.

BARROS, M.A.F. **Ocorrência na carne bovina, identificação dos principais pontos de contaminação em plantas de processamento e relação com a microbiota acompanhante**. 2005. 137 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto no 30.691 de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**. Brasília, 29 mar. 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n.368, de 04 de novembro de 1997. Dispõe sobre o Regulamento Técnico, Condições Higienico Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial da União**, 08 set. 1997. Seção 1, p. 19697.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus Anexos I e II. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45-53

BRASIL. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde (FUNASA). Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.70, 10 de outubro de 2003. Dispõe sobre o Programa de redução de Patógenos, monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 out. 2003 Seção 1, p. 9.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.40 de 12 de dezembro de 2005. Aprovar os Métodos Analíticos, Isolamento e Identificação da Salmonella na carne bovina, avicultura e produtos derivados de ovos - MLG - 4.03, Metodologia Alternativa de Salmonella A-Bax -MLG 4C .01, Isolamento e Identificação de Listeria monocytogenes em carne vermelha, carne de ave, ovos e amostras ambientais, MLG 8.04 - Metodologia Alternativa de Listeria A-BAX MLG-8 A .01, Escherichia coli, MPN AOAC 966.24, Método Petrifilm AOAC 998.08, que passam a constituir Padrões Oficiais para Análise de Microbiologia de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 dez. 2016. Seção 1, p.70

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.9, 8 de abril de 2009. Instituir os Procedimentos de Controle da Listeria monocytogenes em produtos de origem animal prontos para o consumo. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09 abril. 2009. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Norma Interna DIPOA/SDA n. 01, 09 de agosto de 2013.** Aprova os procedimentos operacionais complementares à Instrução Normativa n.09, de 8 de abril de 2009 e define os procedimentos para a coleta oficial de amostras para o controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da Salmonella spp.** Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Norma Interna DIPOA/SDA n. 01, de 17 de junho de 2015.** Aprova os procedimentos para a coleta e análise de *Escherichia coli* verotoxigênica e *Salmonella spp.* em carne de bovino *in natura* utilizada na formulação de produtos cárneos, cominutados, prontos para serem cozidos, fritos ou assados.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.20, 21 de outubro de 2016. Estabelece o controle e o monitoramento de *Salmonella spp.* nos estabelecimentos avícolas comerciais de frangos e perus de corte e nos estabelecimentos de abate de frangos, galinhas, perus de corte e reprodução, registrados no Serviço de Inspeção Federal (SIF), com objetivo de reduzir a prevalência desse agente e estabelecer um nível adequado de proteção ao consumidor. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 out. 2016. Seção 1, p. 13.

BAYOUMI, M.A.; KAMAL, R.M.; EL AAL, S.A.; AWAD, E.I. **Assessment of a regulatory sanitization process in Egyptian dairy plants in regard to the adherence of some food-borne pathogens and their biofilms.** International Journal of Food Microbiology, v.158, p. 225-231, 2012.

BEZZERA, W.I.; MARTINS, T.D.D. **Análise dos Pontos Críticos em uma unidade frigorífica de abate de suínos em Igarassu-PE.** Anais da Jornada Nacional da Agroindústria. Bananeiras, Paraíba. Universidade Federal da Paraíba, 2008.

BOLAND, T.; LATOUR, R.A.; STUTZENBERGER, F.J. **Molecular Basis of Bacterial Adhesion.** Humana Press Inc., New Jersey, v.2, p. 29-41, 2000.

BORCH, E.; ARINDER, P. **Bacteriological safety issues in beef and ready-to-eat meat products, as well as control measures.** Meat Science, v.62, n.3, p. 381-390, 2002.

CADONA, J.S., BUSTAMANTE, A.V., PARMA, A.E., LUCCHESI, P.M.A, SANZO, A.M. **Distribution of additional virulence factors related to adhesion and toxicity in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from raw products in Argentina.** Letters in applied microbiology, v. 56, p. 449-455, 2013.

CARDOSO, T.G., CARVALHO, V.M. **Toxiinfecção alimentar por *Salmonella spp.*** Rev. Instit. Ciência e Saúde, v.56, p. 95-101, 2006.

CHIARINI, E. ***Listeria monocytogenes* em matadouros de aves: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação.** 2007. 149 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo.

CASELANI, K.; PRATA, L.F.; BIZARI, P.A.; PEREIRA, G.T.; MARCHI, P.G.F.; PICINATO, M.A.C. **Occurrence of *Listeria spp.* and *Listeria monocytogenes* at a slaughterhouse bovine of the state of São Paulo.** Biosci. J., Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 956-961, 2013.

CORNICK, N.A., HELGERSON, A.F. **Transmission and infectious dose of *Escherichia coli* O157: H7 in swine.** Applied and environmental microbiology, v.70, p. 5331-5335, 2004.

COSTERNON, J.; STEWART, P.; GREENBERG, E. **Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections.** Science v.284, p.1318–1322, 1999.

DAROUICHE, R. **Device-associated infections: a macroproblem that starts with a microadherence.** Clinical Infectious Disease v. 33, p. 1567-1572, 2001.

DÍEZ-GARCÍA, M.; CAPITA, R.; ALONSO-CALLEJA, C. **Influence of serotype on the growth kinetics and the ability to form biofilms of Salmonella isolates from poultry.** Food Microbiology, v.31, p. 173-180, 2012.

D'AOUST, J. Y. **Psychrotrophy and foodborne Salmonella.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 207-215, jul. 1991.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Nota técnica: Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. Sumariza informações para subsidio técnico a respeito da cadeia da bovinocultura de corte brasileira.** Campo Grande, 2017.

EWERS, C., JANßEN, T., KIEßLING, S., PHILIPP, H.C., WIELER, L.H. **Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic Escherichia coli by multiplex polymerase chain reaction.** Avian diseases, v.49, p. 269-273, 2005.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** 1a edição, editora Atheneu, p.46-50, São Paulo, 1996.

FUZHARA, T. O.; FERNANDES, S. A.; FRANCO, B. D. G. M. **Prevalence and dissemination of Salmonella serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses.** Journal of Food Protection, v. 63, n. 12, p. 1749-1753, 2000.

GARVALHO, E.S.; FERRARINI, M.A. Salmoneloses. In: TONELLI, E., FREIRE, L.M.S. **Doenças infecciosas na infância e adolescência.** Rio de Janeiro: Medsi, 2a ed., p. 584-91, 2000.

GASANOV, U.; HUGHES, D.; HANSBRO, P.M. **Methods for isolation and identification of Listeria spp. and Listeria monocytogenes: a review.** FEMS Microbiol Rev., v. 29, P. 851-875, 2005.

KRASZCZUK, V. **Verificação do processo de higienização pré-operacional de um abatedouro de aves.** 2010. 66 f. Trabalho (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

JAY, J.M. **Modern Food Microbiology.** Mariland: Aspen Publication, 6a ed., p. 679, 2000.

JAY, J.M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology.** New York: Springer, 7a ed., 790 p., 2005.

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 Microbiolog, Amsterdã, v. 64, n. 3, p. 367-372, 2001.

KASNOWSKI, M.C. **Listeria spp., Escherichia coli: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída.** 2004. 111 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense.

KASNOWSKI, M.C.; MANTILLA, S.P.S; OLIVEIRA, L.A.T.; FRANCO, R.M. **Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfície.** Revista Cientí-

fica Eletrônica de Medicina Veterinária, ano 8, n.15, 2010. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/fxPTiYWerLkT9Si_2013-6-25-16-32-0.pdf. Acesso em 20 de maio de 2018.

LADO, B.H.; YOUSEF, A.E. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 3.ed., cap. 6, p.157-213, 2007.

LAKE, R.; HUDSON, A.; CRESSEY, P.; NORTJE, G. **Risk profile: *Listeria monocytogenes* in processed ready-to-eat meats**. Institute of Environmental Science & Research Limited, Christchurch Science Centre, 2002.

LEMOS, A.L.S.C. **Biofilmes**. CTC - TecnoCarnes. Boletim de Conexão Industrial do Centro de Tecnologia de Carnes do Ital., v. 12, n.1, 2002.

LOPES, J.T. **Salmonella spp. na cadeia de produção de carne bovina de exportação: ocorrência, perfil de susceptibilidade antimicrobiana, genes de virulência e perfil de macrorrestrição por PFGE**. 2011. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

LUNDGREN, P.U.; SILVA, J.A.; MACIEL, J.F.; FERNANDES, T.M. 2009. **Perfil da qualidade higiênico sanitária comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/PB**. Revista Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.20, n.1, p. 113-119, 2009.

MANTILLA, S.P.S. **Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal**. Revista da Faculdade de Zootecnia Veterinária e Agronomia, Uruguaiana, v.14, n.1, p. 180-192, 2007.

MARKKULA, A.; AUTIO, T.; LUNDÉN, J.; KORKEALA, H. **Raw and processed fish show identical *Listeria monocytogenes* genotypes with pulsed-field gel electrophoresis**. Journal of Food Protection, v. 68, n. 6, p. 1228-1231, 2005.

MARTINS, M.F. **Avaliação da eficácia de desinfetantes e produtos de limpeza de superfícies usados em restaurantes em Portugal em biofilmes de *Salmonella enterica***. 2013. 58 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra.

MATIAS, B.G. **Contaminação microbiana de carcaças de frangos obtidas em dois sistemas de abate e avaliação de um protocolo de reação em cadeia de polimerase (PCR) para a detecção de *Salmonella* spp.** 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa. MG, 2008.

MATSUBARA, E.N. **Condição higiênico – sanitária de meias carcaças de suínos após o abate e depois do resfriamento e análise de utilização de Lista de Verificação para avaliar boas práticas no abate de suínos**. 2005. 152 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Zootecnia, Universidade de São Paulo.

MCEWEN, S.A.; FEDORKA-CRAY, P.J. **Antimicrobial use and resistance in animals**. Clinical Infectious Diseases, v.34, p. 93-106, 2002.

MELLATA, M.; DHO-MOULIN, M.; DOZOIS, C.M.; CURTIS III, R.; LEHOUX, B.; FAIRBROTHER, J.M. **Role of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence factors in bacterial interaction with chicken heterophils and macrophages**. Infect Immun. v. 71, n. 1, p. 494-503, 2003.

MENDONÇA, E.P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil**. 2016. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Uberlândia.

MOREIRA, H.O.M. **Isolamento de *E. coli* ácido-resistentes em fezes de bovinos submetidos à dieta de volumoso e concentrado.** 2007. 60 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Faculdade em Ciências das Saúde, Universidade de Brasília.

NAVEEN, R. **Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups.** Indian J. Med. Res., v. 122, p. 143-147, 2005.

NERO, L.A. ***Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.* em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras no Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção.** 2005. 141 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, M.M.M.; BRUGNERA, D.F.; PICCOLI, R.H. **Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão.** Rev Inst Adolfo Lutz, São Paulo, v.69, p. 277-84, 2010.

OLIVEIRA, D.C.V. **Produção de bioclima por *Salmonella sp.* isolada de frango.** 2011. 43 f. Dissertação (Mestrado em Biologia geral e aplicada) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

PAILLARD, D.; DUBOIS, V.; DURAN, R.; NATHIER, F.; GUITTET, C.; CAUMETTE, P.; QUENTIN, C. **Rapid identification of *Listeria* species by using restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified 23S rRNA gene fragments.** Applied and environmental microbiology, v.69, p. 6386-6392, 2003.

PARIZZI, S.Q.F. **Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method.** Brazilian Archives of Biology Technology, v.47, n.1, p.77-83, 2004.

PIATTI, R.M; BALDASSI, L. **Prevalência de *Escherichia coli* O78: K80 na microbiota de aves da região oeste do Estado de São Paulo.** Instituto Biológico, v.74, n.4, p.357-359, 2007.

WHO/FAO - World Health Organization/Food and Agriculture Organization. **Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report.** Microbiological risk assessment series, 2004.

RIGOBELLO, E.C. STELLA, A.E.; AVILA, F.A.; MACEDO, C.; MARIN, J.M. **Characterization of *Escherichia coli* isolated from carcasses of beef cattle during their processing at an abattoir in Brazil.** International Journal of Food Microbiology, v.110, p.194-198, 2006.

ROCHA, R.A.; SILVA, P.H.C.; SOUZA, N.R.; MURATA, L.M.; GONÇALVES, V.S.P.; SANTANA, A.P. **Ocorrência e diferenciação de espécies de *Listeria spp.* em salsichas tipo hot dog a granel e em amostras de carne moída bovina comercializadas no Distrito Federal.** Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.1, p.147-152, jan, 2014

RODRIGUES, L.B. **Avaliação da formação de biofilmes e das condições higiênico-sanitárias em superfícies de contato com alimentos em sala de cortes de matadouro de aves.** 2009. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SANDRINI, C.N.M.; PEREIRA, M.A.; BROD, C.S.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. ***Escherichia coli* verotoxigênica: isolamento e prevalência em 60 propriedades de bovinos de leite da região de Pelotas, RS, Brasil.** Rev. Ciência Rural, v.37, n.1, p.175-182, 2007.

SANTOS, L.A., MION, L., MAROTZKI, M., PARIZOTTO, L. **Número mais provável miniaturizado e microbiologia convencional para isolamento de *Salmonella spp.* em abatedouros de frangos de corte.** Pesq. Vet. Bras., v. 35, p. 223-229, 2015.

SANTOS, R.L., PALMA, J.M., SANTANA, A.P. **Avaliação da qualidade higienicossanitária de carcaças de bovinos oriundos de abatedouros frigoríficos do Distrito Federal e Entorno.** Higiene Alimentar - Vol.31 - no 272/273 - Setembro/Outubro de 2017

SHAKERI, S.; KERMANSHAHI, R.K.; MOGHADDAM, M.M.; EMTIAZ, G. - **Assessment of biofilm cell removal and killing and biocide efficacy using the microtiter plate test.** Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research, v. 23, p. 79-86, 2007.

SINDICATO DAS INDÚSTRIAS AVÍCOLAS DO ESTADO DO PARANÁ - SINDIAVIPAR. **Dados estatísticos sobre a produção e exportação da carne de frango.** Disponível em: <https://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=8&acao=frango>. Acesso em 9 de fevereiro de 2018.

SILVA, F.M. **Listeria monocytogenes: um perigo invisível nos alimentos.** 2009. 44 f. Trabalho Final de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdades Metropolitanas Unidas .

SILVA, L.R. **Pesquisa de Escherichia coli 0157:H7 em bovinos abatidos em matadouro frigorífico de Curitiba- Paraná.** 2002. 142 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade do Paraná.

SHI, X.; ZHU, X. - **Biofilm formation and food safety in food industries.** Trends in Food Science & Technology, v.20, p. 407-413, 2009.

SOUSA, C.P. **Food security and food-borne diseases: utilization of the coliform group as one indicator of food quality.** Revista APS, v.9, n.1, p. 83-88, 2006

STOCCO, C.W.; ALMEIDA, L.; BARRETO, E.H.; BITTENCOURT, J.V.M. **Controle de qualidade microbiológico em processamento de frigorífico bovino.** Revista Espacios, v. 38, n.22, p. 9, Caracas, 2017.

UHITIL, S. **Prevalence of Listeria monocytogenes and the other Listeria spp. in cakes in Croatia.** Food Control, v. 15, n. 3, p. 213-216, 2004.

VAN AMSON, G; HARACEMIV, S. M. C; MASSON, M. L. **Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná Brasil, no período de 1978 a 2000.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 30, n.6, p. 1139-1145, 2006,

VASCONCELOS, R.M.; MARIN, V.A. **Listeria monocytogenes em Queijo.** Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, v. 15, p. 32-45, 2008.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. **Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Revista Brasileira de Biociência, v.8, n.1, p.44-48, 2010.