

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
MEDICINA VETERINÁRIA**

TATIANE SARMENTO MARTINS

**PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE *LISTERIA SP.* EM CARÇAÇAS SUÍNAS
ANTES E APÓS O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CÂMARA FRIA**

LAGES – SC

2013

TATIANE SARMENTO MARTINS

**PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE *LISTERIA SP.* EM CARÇAÇAS SUÍNAS
ANTES E APÓS O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CÂMARA FRIA**

Dissertação apresentada à coordenação do curso de Mestrado em Ciência Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Veterinária.

Orientadora: Dra. Sandra Maria Ferraz

LAGES – SC

2013

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Martins, Tatiane Sarmiento
Pesquisa e quantificação de *listeria sp.* em carcaças suínas antes e após o
processo de maturação em câmara fria. / Tatiane Sarmiento Martins;
orientadora: Sandra Maria Ferraz. – Lages, 2013.
46f.

Inclui referências.

Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias /
UDESC.

1. *Listeria monocytogenes*. 2. Carcaça. 3. Câmara fria. 4. Suíno.
I. Título.

CDD – 636.4

TATIANE SARMENTO MARTINS

**PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE *LISTERIA SP.* EM CARCAÇAS SUÍNAS
ANTES E APÓS O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CÂMARA FRIA**

Dissertação apresentada à coordenação do curso de Mestrado em Ciência Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora

Orientadora:

Dra. Sandra Maria Ferraz
CAV/UEDESC

Membro:

Dra. Eliana Knackfuss Vaz
CAV/UEDESC

Membro:

Dr. Denis Augusto Spricigo
UFSM

Lages – SC

2013

Aos Animais dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida!

À minha orientadora, Sandra Maria Ferraz, pela confiança, apoio e orientação.

Ao meu companheiro, Leonardo Dalla Lana, pelo amor e pela vida que estamos construindo juntos.

À minha família, pelo apoio e torcida.

Ao meu amigo e Mestre, Roberto Degenhardt, que não mediu esforços em me orientar, ouvir e incentivar nos momentos difíceis durante esta trajetória!

À Dona Fernanda Melo, que tornou os meus dias mais divertidos e por me ajudar sempre. Fê, provavelmente seguiremos caminhos diferentes, mas tenha certeza que você ficará pra sempre em meu coração!

Aos amigos do CEDIMA!

A BRF, que me permitiu dar continuidade aos estudos.

A Unoesc – Campus Joaçaba pela parceria.

Às meninas do laboratório de Bioprocessos, que tornaram “minhas noites laboratoriais” mais leves.

Aos estabelecimentos, que acreditaram no projeto e abriram suas portas para realizarmos as coletas de dados.

Ao Professor Dr. André Thaler, que gentilmente realizou a análise estatística deste trabalho.

Aos meus filhos: Luli, Brenda, Kimmy, Preta, Yummi, Lucão, Bethoven, Manfred, Oliver e Uilly, que me enchem de amor e fazem com que eu seja cada dia mais apoiadana pelos animais e pela profissão que eu escolhi. Por fim, agradeço a todos os animais que me permitiram ajudá-los e amá-los, estes, sem dúvida, são o verdadeiro motivo da minha luta e de minhas vitórias!

A todos, muito obrigada!

“Chegará o dia em que todo homem conhecerá o íntimo dos animais. Nesse dia, um crime contra um animal será considerado um crime contra a própria humanidade.”

Leonardo Da Vinci

RESUMO

A suinocultura brasileira passa por um momento histórico com a tentativa de expansão de novos mercados, incluindo os estados-membros da União Europeia, Estados Unidos da América e Japão. Requisitos da legislação nacional e internacional, a respeito da higiene dos produtos de origem animal sinalizam a necessidade de direcionar ações a todos os segmentos da cadeia produtiva da carne suína, visando a proteção da saúde da população. O objetivo deste trabalho foi determinar e quantificar a presença de *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas antes e após a câmara fria. As coletas de materiais foram realizadas em dois frigoríficos localizados no Estado de Santa Catarina. No estabelecimento A foram coletadas 226 amostras de carcaças. As coletas para análise foram por meio de *swab* (esponja) e a área de amostragem do esfregaço abrangeu uma área delimitada de 100 cm² por ponto de amostragem, totalizando uma área de 400 cm². Os pontos de coleta foram no pernil, lombo, barriga e papada. No laboratório, as amostras foram acrescidas de 100 ml de caldo de pré-enriquecimento UVM (Universidade de Vermont) e homogeneizadas no caldo. O caldo foi incubado a 30°C/24h e posteriormente repicado 0,1 ml da cultura para o caldo Fraser, e incubado a 36°C/24h. As amostras presuntivamente positivas foram repicadas para Ágar ALOA para isolamento (incubação a 36°C/24h). As colônias suspeitas foram identificadas por meio de provas bioquímicas e CAMP-teste. Para a quantificação foi utilizada a técnica de Número Mais Provável. Das amostras analisadas nos estabelecimentos A, 0,44% (1) foram positivas para *L. monocytogenes* para antes e após a câmara fria. Houve aumento de carcaças suínas positivas para *Listeria* sp. após a câmara fria, podendo esta ser considerada como um ponto de contaminação. Porém, não foi possível comprovar se houve aumento do número de *Listeria* sp. na carcaça suína após a câmara fria.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*. Carcaça. Câmara fria. Suíno.

ABSTRACT

*The Brazilian swine production goes through a historic moment attempting to develop new markets, including the member states of the European Union, United States and Japan. Requirements of national and international law, about the hygiene of products of animal origin signal the need for direct actions to all segments of the supply chain of pork for protecting health of the population. The objective of this study is to determine and quantify the presence of *Listeria monocytogenes* in pig carcasses before and after the cool chamber. Material sampling was carried out at one processing plant located in the State of Santa Catarina. 226 samples were collected from carcasses. Sampling was performed by means of sponge and the smear sampling area which covered a defined area of 100 cm² per sampling, totaling an area of 400 cm². The points were in the ham, loin, belly and jowl. At the laboratory, samples were added to 100 ml of pre-enrichment broth UVM (University of Vermont) and homogenized in the broth. The broth was incubated at 30° C/24h and subsequently peaked 0.1 ml of culture to Fraser broth and incubated at 36° C/24h. The samples presumptively positive were peaked for ALOA Agar for isolation (incubation at 36° C/24h). The suspected colonies were identified by biochemical tests and test-CAMP. For quantification we used the technique of Most Probable Number. From the samples analyzed within the establishments A, 0.44% (1) samples were positive for *Listeria monocytogene*. An increase of positive results for *Listeria sp.* was found on the pig carcasses after passing the cold chamber. In this sense, it could be considered a contamination point. However, the results did not show an increase on the number of *Listeria sp.* on the carcasses after passing the cold chamber.*

Keywords: *Listeria monocytogenes*. Carcasses. Cool Chamber. Pig.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aW	Atividade de Água
°C	Graus Célsius
NMP	Número Mais Provável
pH	Potencial hidrogênionico
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	PRODUÇÃO DE CARNE SUÍNA.....	11
2.2	ALIMENTOS SEGUROS	13
2.3	GÊNERO LISTERIA	15
2.4	LIMITES LEGAIS PARA O CONTROLE DA <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> .	18
3.	REFERÊNCIAS.....	20
4	ARTIGO: PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> EM CARÇAÇAS SUÍNAS ANTES E APÓS O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CÂMARA FRIA	25
	INTRODUÇÃO	26
	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
	CONCLUSÃO.....	32
	REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira passa por um momento histórico com a tentativa de expandir novos mercados, incluindo os estados-membros da União Europeia, Estados Unidos da América e Japão. Esforços do Ministério da Agricultura e dos estabelecimentos de abate de suínos estão sendo realizados para atender requisitos internos e exigências dos países importadores.

Estudos da legislação brasileira e dos requisitos internacionais a respeito da higiene dos produtos de origem animal sinalizam a necessidade de direcionar ações a todos os segmentos da cadeia produtiva da carne suína, visando à proteção da saúde do homem. Milhões de pessoas adoecem e morrem em decorrência do consumo de alimentos não seguros e, além disso, representam um custo governamental muito significativo.

Atualmente, entre os agentes infecciosos de maior interesse para a saúde pública está a *Listeria monocytogenes*, responsável por alto índice de mortalidade em populações de risco, como pacientes imunocomprometidos, idosos e gestantes. Por isso, a segurança alimentar deve incluir medidas para garantir ao máximo a produção de alimentos seguros. Políticas e ações destinadas a este fim devem abranger toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até o consumidor final.

Na cadeia produtiva da carne suína, o controle de processo deve assegurar uma abordagem preventiva, para evitar que a *Listeria monocytogenes* se torne um risco à saúde pública e uma barreira as comercializações.

Diretrizes do Codex Alimentarius (CAC/GL 61 – 2007) foram estabelecidas com o objetivo de reduzir a níveis aceitáveis a probabilidade de enfermidades causadas pela presença de *L. monocytogenes* em alimentos considerados prontos para o consumo, pois só no primeiro semestre de 2012 foram publicados pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos da América (Food and Drug Association -FDA) cinco recolhimentos de produtos supostamente contaminados por *L. monocytogenes* nos Estados Unidos da América.

No Brasil, não há relatos de recolhimento de produtos cárneos devido à presença de *L. monocytogenes*. Entretanto, isso não significa que não haja alimentos contaminados disponíveis para a população, já que a presença de micro-

organismos patogênicos, em ambientes úmidos e com baixas temperaturas pode comumente ser detectada.

A carcaça suína é amplamente utilizada como matéria-prima na fabricação de produtos cárneos curados, fermentados e maturados. No entanto, não há garantias que o processo de obtenção desses produtos seja capaz de eliminar a presença de *L. monocytogenes*.

Na produção primária, o resfriamento da carcaça suína é uma etapa obrigatória. Diretrizes brasileiras e internacionais estabelecem tempo e temperaturas de resfriamento, visando controles referentes aos aspectos microbiológicos e tecnológicos da produção da carne suína.

A portaria nº 711/1995, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, preconiza tempo mínimo de resfriamento de 12 horas, temperatura interna da câmara de 0°C e, ao final deste período, a carcaça deve sair para desossa com temperatura interna de, no máximo, 7°C (BRASIL, 1995).

A determinação e quantificação da *L. monocytogenes* na entrada e na saída da câmara de resfriamento de carcaças é importante para determinar a situação sanitária atual das carcaças antes e após o resfriamento e, a partir disso, propor programas de controles em pontos específicos da cadeia produtiva.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo determinar e quantificar a presença de *L. monocytogenes* na carcaça suína antes e após o processo de resfriamento em câmara fria em dois estabelecimentos do estado de Santa Catarina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE CARNE SUÍNA

Segundo Bridi e outros (2006), o Brasil é apontado como o país que poderá liderar a produção mundial de suínos por ser um dos maiores produtores de grãos e possuir condição primária para a sustentação da cadeia suinícola.

Atualmente, o Brasil ocupa a quarta posição na produção mundial de carne suína e o quinto como consumidor. Em Santa Catarina, destacam-se as

microrregiões de Concórdia, Joaçaba, Chapecó e São Miguel do Oeste (IBGE, 2012).

Alguns elementos como sanidade, nutrição, bom manejo da granja, produção integrada e, principalmente, aprimoramento gerencial dos produtores, contribuíram para aumentar a oferta interna e colocar o país em destaque no cenário mundial. Como consequência destes investimentos, a produção vem crescendo em torno de 4% ao ano, sendo os estados de Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul os principais produtores de suínos do País (BRASIL, 2012). No primeiro trimestre de 2012 foram abatidos 8,74 milhões de suínos, representando aumento de 6,9% frente ao mesmo período de 2011 (IBGE, 2012). Atualmente, o Brasil representa 10% do volume exportado de carne suína no mundo, chegando a lucrar mais de US\$ 1 bilhão por ano (BRASIL, 2012).

As expectativas de atendimento às exigências do mercado internacional requer investimento contínuo na cadeia suinícola para melhorar a produtividade e a qualidade da carne suína (BRIDI et al., 2006).

Em 2012, o aumento do consumo de carne suína no país atingiu 15,1kg *per capita*, não só adiantando, mas ultrapassando a meta estabelecida pelo Projeto Nacional de Desenvolvimento da Suinocultura – PNDS (PORKWORD, 2011).

O Brasil está sendo referência na produtividade da carne suína e, com isso, necessita dedicar-se ao aspecto da saúde do rebanho nacional e garantir a transformação do animal em carne com excelência de qualidade, incluindo os aspectos de inocuidade. Atualmente, a conquista e manutenção de mercados dependem cada vez mais dos aspectos sanitários (BRASIL, 2012).

Neste contexto, é necessário que tecnologias de conservação se desenvolvam, já que os micro-organismos possuem um papel relevante na indústria da carne, visto que o agente patogênico e a fonte deste é o próprio animal vivo. A ausência total de bactérias patogênicas na carne seria o ideal, mas isso é praticamente inalcançável, pois bactérias como *Clostridium perfringens*, *Salmonella* Enteritidis e *Listeria monocytogenes* podem habitar os animais (PORTO, 2006).

2.2 ALIMENTOS SEGUROS

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2007), tem sido um grande desafio adequar a produção de alimentos à demanda crescente da população nas últimas décadas, tornando a alimentação um motivo de preocupação mundial, principalmente nos países em desenvolvimento, que abrigam milhares de pessoas carentes.

Os problemas relativos à contaminação de alimentos para consumo humano tornaram-se mais evidentes com a globalização. A facilidade de distribuição de alimentos industrializados pelo mundo e a livre importação de produtos são exemplos típicos, sendo um fator contribuinte para sua contaminação e, conseqüentemente, para a ocorrência de danos à saúde humana (BALBANI; BUTUGAN, 2001).

Na década de 1980, a bactéria *L. monocytogenes* atraiu a atenção da comunidade científica após ser responsável por surtos de uma doença denominada Listeriose, na América do Norte e Europa. A partir desses surtos, os pesquisadores passaram investigar a listeriose como doença de origem alimentar (FABER; PETERKIN, 1991).

Em 2003, a FDA e o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (*Food Safety and Inspection Service*, FSIS) dos Estados Unidos, em consulta com os Centros de Controle e Prevenção de Doenças, lançaram uma avaliação de risco relativo associado ao consumo de determinadas categorias de alimentos que tinham um histórico de contaminação por *L. monocytogenes*, ou que foram implicados epidemiologicamente com um surto ou um caso esporádico de listeriose (FDA, 2003).

A crescente incidência de toxinfecções alimentares e agravos à saúde estão relacionados a diversos outros fatores, como a modificação no estilo de vida e hábitos alimentares dos consumidores; alterações nas práticas de produção, distribuição, armazenagem e preparo dos alimentos; adaptação dos micro-organismos frente às adversidades ambientais; uso indiscriminado de antimicrobianos; e maior facilidade de diagnóstico das doenças de origem alimentar devido à evolução tecnológica, entre outros (POTES, 2007).

A comunidade científica e o complexo agroindustrial estão trabalhando para melhorar a eficiência na produção de carne e atender as exigências crescentes do mercado consumidor. A competitividade é demonstrada principalmente pelo mercado internacional, que direcionou os investimentos da cadeia produtiva da carne suína para a segurança alimentar (SILVEIRA, 2011).

O conceito de Segurança Alimentar surgiu a partir da Segunda Guerra Mundial. Nesse período, mais da metade da Europa estava devastada e sem condições de produzir seu próprio alimento. Esse conceito baseia-se em três aspectos principais: quantidade, qualidade e regularidade no acesso aos alimentos (BELIK, 2003).

A Organização Mundial da Saúde estima que anualmente 2,2 milhões de adultos e 1,9 milhões de crianças morrem em decorrência de intoxicações alimentares. Doenças transmitidas por alimentos são uma grande ameaça à segurança alimentar e constituem um problema crescente de saúde pública, por isso a missão da Organização Mundial da Saúde é ajudar os estados-membros a reforçar os seus programas para a melhoria da segurança dos alimentos em toda a cadeia de produção do alimento (OMS, 2007).

O processamento adequado do suíno durante as etapas do abate interferem diretamente na obtenção de carnes seguras quanto ao aspecto de inocuidade e com boa qualidade tecnológica. As boas práticas de fabricação foram estabelecidas com intuito de prevenir, reduzir e/ou eliminar riscos físicos, químicos e biológicos. Estas práticas abrangem todos os requisitos de instalações, equipamentos, utensílios e saúde dos manipuladores (BRASIL, 1995).

Atualmente, vigoram normas específicas para o abate e processamento de suínos, como: o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, Decreto nº 30.691, de 26 de março de 1952 (BRASIL, 1952) e as Normas Técnicas de Instalações e Equipamentos para Abate e Industrialização de Suínos, Portaria nº 711, de 1º de novembro de 1995 (BRASIL, 1995).

Os programas das indústrias de alimentos de origem animal devem ser fundamentados em uma inspeção contínua e sistemática de todos os fatores que, de alguma forma, podem interferir na qualidade higiênico-sanitária dos produtos. As legislações direcionadas ao controle sanitário de alimentos tratam esses programas como requisitos básicos para garantir a inocuidade dos alimentos. Esses programas

incluem o Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO), Programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e o Programa de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 2005).

Segundo Almeida (1998), o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) tornou-se o método universalmente reconhecido e aceito para a garantia da segurança alimentar. A preocupação recente e crescente sobre a produção de alimentos seguros por meio das autoridades de saúde pública, indústria de alimentos e consumidores em todo o mundo tem sido o grande impulso na aplicação desse sistema.

Segundo a Anvisa (2003), o sistema de APPCC contribui para uma maior satisfação do consumidor, torna as empresas mais competitivas, amplia as possibilidades de conquista de novos mercados, nacionais e internacionais, além de propiciar a redução de perdas de matérias-primas, embalagens e produto. O sistema é recomendado por organismos internacionais, como a OMC (Organização Mundial do Comércio), FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura), OMS e pelo Mercosul, e é exigido pela Comunidade Europeia e pelos Estados Unidos. No Brasil, o MAPA (Ministério da Saúde e o Ministério da Agricultura e Abastecimento) já têm ações com objetivo de adoção do Sistema APPCC pelas indústrias alimentícias.

A detecção de *L. monocytogenes* na linha do abate de suíno dá subsídios para uma análise de perigos criteriosa e, a partir dessa, os pontos críticos de controle podem ser estabelecidos e devidamente monitorados (SANTOS et al., 2005).

2.3 GÊNERO LISTERIA

Morfologicamente, a *Listeria sp.* é um cocobacilo típico de coloração gram-positiva. Não produz esporos e possui catalase positiva. Produz ácido lático a partir da glicose e de outros açúcares fermentados. Cresce confortavelmente em baixas concentrações de oxigênio e em altas concentrações de dióxido de carbono, sendo anaeróbias facultativas (DWIGHT & YUAN, 2009; JAY, 2005).

O gênero *Listeria* possui seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. grayi*. Estas são muito semelhantes entre si, e possuem características bioquímicas, como: catalase positiva, oxidase negativa, móvel em 20°C, produzem ácidos a partir de D-xilose, L-ramnose, e manitol. As espécies *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* e *Listeria ivanovii* apresentam β hemólise em Agar sangue. São esculina positiva e fermentam glicose (SEELIGER; JONES, 1986; LOVETT, 1988; BILLE et al., 1992; RYSER; MARTH, 2007).

Importantes características do gênero *Listeria* são suas habilidades em crescer a temperaturas que variam entre 0,4 até 45°C, pH com variações de 4.1 até 9.6, atividade de água (a_w) de 0.92 ou mais e em altas concentrações de sal, com salmoura de 10%. (SHAHAMAT; SEAMAN; WOODBINE, 1980; PETERSON et al., 1993; PETRAN; ZOTTOLA, 1989; FAO, 1999; JAY, 2005).

A *L. monocytogenes* é um patógeno intracelular, sendo que, linhagens virulentas podem romper a barreira do epitélio intestinal e penetrar nas células. Os mecanismos que dividem as listerias em patogênicas e não patogênicas são a capacidade de aderir/penetrar na barreira epitelial e de se difundir de célula a célula (JAY, 2005).

A *L. monocytogenes* é o agente causador da doença denominada listeriose e acomete uma ampla variedade de animais, entre eles o homem. Em humanos, a Listeriose causa septicemias, abortos e danos ao sistema nervoso central (GYLES et al., 2004).

As infecções geralmente ocorrem após a ingestão de alimentos contaminados, e o trato gastrointestinal é o sítio primário de entrada no hospedeiro. O período de incubação pode variar de 20 horas após a ingestão de alimentos contaminados a 20–30 dias, nos casos de doenças invasivas (DWIGHT; YUAN, 2009).

A sua distribuição é cosmopolita, sendo isolada em solos, silagens, afluentes de esgotos, água corrente e em mais de 50 espécies de animais. Em algumas regiões há relatos que até 70% dos seres humanos sejam portadores assintomáticos para *Listeria sp.*. A contaminação do solo e a ingestão de alimentos com pH maior que 5,5, comumente está implicada e colabora para que a listeriose frequentemente seja chamada “doença da silagem”. Um portador assintomático pode ser fonte para maiores contaminações do ambiente e, dessa maneira, uma forma indireta de infecção (DWIGHT; YUAN, 2009).

Devido à importância da *L. monocytogenes* como um agente patogênico de origem alimentar, a maioria dos estudos sobre a *Listeria* no ambiente tem se concentrado no processamento de alimento em ambientes agrícolas (LOU; YOUSEF, 1999).

Os alimentos são importantes vetores na disseminação da *Listeria monocytogenes*. Devido à sua ampla distribuição, alimentos como vegetais, leites, queijos, peixes e carnes são facilmente contaminados (BAHRANI-MOUGEOT; DONNENBERG, 2004). ILSI (2005) e Rocourt (1999), consideram que os alimentos de maior risco para transmissão de listeriose são os prontos para o consumo e que têm vida de prateleira longa em temperatura de refrigeração.

Korsak e outros (2005), avaliando patógenos causadores de doenças de origem alimentar, detectaram a presença de *L. monocytogenes* na superfície de carcaças suínas e reafirmaram que o referido patógeno é um dos principais perigos para a saúde pública. Segundo Jay (2005), foi relatada a contagem elevada de *L. monocytogenes* por grama na pele suína crua ($4,3 \times 10^4$), nos EUA, em 1991. Casos comprovados de surtos de listeriose de origem alimentar foram relatados na Itália (1990) e França (1993), tendo como principal fonte de infecção linguiça suína e suíno fatiado, respectivamente.

Em estudo realizado por Sakate e outros (2003), o processo de fabricação dos produtos cárneos fermentados, considerados prontos para consumo, não elimina eventual presença de células de *L. monocytogenes*. Neste estudo foram encontradas populações deste micro-organismos em 6,7% das amostras analisadas.

Nos Estados Unidos, em um período de mais de 39 meses, 7,1% das 1.727 amostras de carne de gado crua foram positivas para *L. monocytogenes* e, em um período de mais de 21 meses, 19,3% de 3.700 amostras de frango foram positivas. No mesmo estudo, 2,8% de diversas carnes prontas para o consumo, provenientes de 4.105 plantas de processamento nos EUA, foram positivas para os microrganismos (JAY, 2005).

A existência de grupos de risco, associada ao fato de o micro-organismo ser passível de isolamento em alimentos processados, do tipo “pronto para consumo” ou refrigerados, tem despertado o interesse de indústrias alimentícias, autoridades de Saúde Pública e de pesquisadores em vários países (LOGUERCIO et al., 2001).

Nos últimos 10 anos, na França, os produtos de origem suína se mostraram mais frequentemente envolvidos em surtos de listeriose do que os produtos

derivados do leite, ressaltando a importância de mais pesquisas buscando a presença de *L. monocytogenes* em produtos cárneos (LECLERC et al., 2002). Lou e Yousef (1999) relatam que surtos de listerioses são frequentemente associados com falhas operacionais ou processamento.

Dessa forma, inúmeras publicações têm tido como objetivo o estudo de *L. monocytogenes* em ambientes de processamento (FENLON; WILSON; DONACHIE, 1996; KORNACHI et al., 2005).

De acordo com a FDA (2003), a *L. monocytogenes* está disseminada no ambiente e, por isso, pode ser introduzida em instalações de processamento pelos manipuladores, equipamentos, utensílios, instalações e matérias-primas.

Este micro-organismo pode multiplicar-se lentamente em temperaturas de refrigeração, assim, desafiando uma importante defesa contra patógenos de origem alimentar: a refrigeração (USDA/FSIS, 2001).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e o Serviço de Segurança e Inspeção Alimentar (USDA/FSIS) apontaram o *L. monocytogenes* como responsável por 50% (31 de 62) dos *recalls* para produtos cárneos prontos para o consumo (USDA/FSIS, 2001).

Muitos relatos indicam que a *L. monocytogenes* e a *L. innocua* representam ser as mais comuns em ambientes naturais, comparadas com as demais espécies (MACGOWAN et al., 1994). A causa da contaminação de produtos prontos para o consumo por *Listeria monocytogenes* são as condições sanitárias inadequadas de processamento (FDA, 2003). Além disso, a eliminação total da *L. monocytogenes* em alimentos é difícil porque muitos animais podem ser portadores dessa bactéria (DEDIOL et al., 2002).

2.4 LIMITES LEGAIS PARA O CONTROLE DA *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Alguns países estabeleceram limites legais para o número de *L. monocytogenes* permitido em alimentos, especialmente para produtos prontos para o consumo, enquanto outros têm sugerido procedimentos ou critérios que não têm amparo legal (JAY, 2005).

A exemplo disso, o regulamento 1441/2007, da Comunidade Europeia, estabelece tolerância zero para *L. monocytogenes* em 1g de produtos cárneos (CE, 2007). As diretivas provisórias da Grã-Bretanha, estabeleceram quatro grupos de qualidades para alimentos prontos para o consumo, de acordo com o número de *Listeria monocytogenes*: Não detectado em 25g é satisfatório; $> 10^2$ em 25g é razoavelmente satisfatório; entre 10^2 a 10^3 é insatisfatório, e números $> 10^3$ tornam o produto inaceitável (GILBERT, 1992).

A França, segundo Tompkin e outros (1992), requer ausência de *L. monocytogenes* em amostras de 25g de alimentos para indivíduos em risco. A posição francesa parece não ser realista por esperar a ausência deste patógeno em alimentos crus. Tem sido observado que a presença desse micro-organismo no ambiente de processamento de alimentos é inevitável, especialmente no produto pronto, conseqüentemente, o risco da contaminação do produto final pode ser reduzido, mas não eliminado.

No Brasil, não há procedimentos estabelecidos de controle de *L. monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo ou *in natura*. A Instrução Normativa nº 09, de 08 de abril de 2009, que regulamentava o Programa de *L. monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo, foi suspensa temporariamente pelo Memorando Circular nº 11/2012/CGPE/DIPOA. Por conseguinte, acredita-se que trabalhos como este possam contribuir para um delineamento de programas de controle e redução de *L. monocytogenes* na carne suína.

3. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC, 2003. Disponível em:**

<<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/appcc.htm>>. Acesso em: 12 jan. 2013

ALMEIDA, C. R. O sistema de HACCP como ferramenta para garantir a inocuidade dos Alimentos. *Revista Higiene Alimentar*, v. 12, n. 53, p. 12-20, 1998.

BALBANI, A. P. S., BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. *Revista de Pediatria*. São Paulo, v. 23, n. 4, p. 320-328, 2001.

BELIK, W. Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil. *Saúde e Sociedade*. v. 12, n.1, p.12-20, 2003.

BILLE, J.; CATIMEL, B.; BANNERMAN, E.; JACQUET, C.; YERSIN, M. N.; CANIAUX, I. MONGET, D. and ROCOURT, J.. Listeria, a new and promising on-day syatens to identify Listeria isolates. *Applied and Evironmental Microbiological*, v. 58, n. 6, p. 1.857-1.860, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>. Acesso em 01 dez. 2012

_____. *Plano Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional*: 2012. Câmara Interministerial de Segurança Alimentar e Nutricional. Brasília, DF: CAISAN, 2011. Disponível em: <http://www.mds.gov.br/segurancaalimentar/arquivos/LIVRO_PLANO_NACIONAL_CAISAN_FINAL.pdf>. Acesso em: 31 nov. 2012.

_____. *Suínos*. Ministério da Agricultura, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/suinos>>. Acesso em: 30 out. 2012.

_____. Instrução Normativa n. 09, de 08 de abril de 2009. Institui os procedimentos de controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para consumos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF: 9 abr. 2009.

_____. Circular n. 175/2005/CGPE/DIPOA. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole (Versão Preliminar). Brasília, DF: 16 maio de 2005. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/Legislacoes/circ1752005.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2012

_____. Portaria n. 711, de 1º de novembro de 1995. Aprova as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF: 3 nov. 1995.

_____. Decreto n. 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*, Rio de Janeiro, 29 mar. 1952. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D30691compilado.htm>. Acesso em: 28 nov. 2012.

BRIDI, A. M.; OLIVEIRA, A. R.; FONSECA, N. A. N.; SHIMOKOMAKI, M.; COUTINHOS, L. L. e SILVA, C. A.. Efeito do genótipo halotano, da ractopamina e do sexo do animal na qualidade da carne suína. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 5, p. 2027-2033, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/0D/rbz/v35n5/21.pdf>>. Acesso em: 31 nov. 2012.

CODEX ALIMENTARIUS INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. GUIDELINES ON THE APPLICATION OF GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE TO THE CONTROL OF LISTERIA MONOCYTOGENES IN FOODS. CAC/GL 61/2007. Disponível em: http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0CCgQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.codexalimentarius.net%2Finput%2Fdownload%2Fstandards%2F10740%2FCXG_061e.pdf&ei=s2RQUdGjOrD00QHrxYGIBA&usg=AFQjCNGYc9pr9n7Yg8tr8uzZegXyjb5eZg. Acesso em 02 out. 2012

DEDIOL, C.; NACIF, N.J.; SÁNCHEZ, M. ACOSTA, M.V. E SFREDDO S.E..Incidência de *Listeria monocytogenes* en carne Vacuna Fresca en El área Del gran Mendoza. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 12, p. 12-16, nov./dez. 2002.

DWIGHT, C. H.; YUAN, C. Z. *Microbiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

FAO Fisheries Report nº 604. *Report of the FAO expert consultation on the trade impact of Listeria in fish products*. Amherst, MA, United States, 17-20 May 1999.

FARBER, M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews*. v. 55, n. 3, p. 476-511, 1991.

FENLON, D.R.; WILSON, J.; DONACHIE, W. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. *Journal of Applied Bacteriology*. v. 81, n. 6, p. 641-650, 1996.

GILBERT, R. J. Provisional microbiological guidelines for some ready-to-eat foods sampled at point of sale: notes for PHLS Food Examiners. *Public Health Serv. Lab.* n. 9, p. 98-99, 1992.

GYLES, C. L.; PRESCOTT, J.F.; SONGER J.G. and THOEN, C.O.. Pathogenesis of bacterial infections in animal. 3rd ed. 2004

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE. Achieving continuous improvement in reduction in foodborne listeriosis: a risk based approach. *Journal of Food Protection*, v. 68, p. 1932 – 1994, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Estatística da produção pecuária*: junho de 2012. 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201201_publ_completa.pdf>. Acesso em: 30 out. 2012.

JAY, James M. *Microbiologia de alimentos*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 517-542, 2005.

KORNACKI, J. L. Controlling *Listeria* in the food processing environment. *Journal of Food Technology*, v. 59, n.11, p. 36-42, 2005.

KORSAK, N.; DAUBE.G.; GHAFIR, Y.; CHAHED, A.; JOLLY, S. and VINDEVOGEL, H.. An efficient sampling technique used to detect four food borne pathogens on pork and beef carcasses in nine belgian abattoirs. *Journal of Food Protection*, v. 61, p. 535-541, 2005.

LECLERC V.; DUFOUR B.; LOMBARD B.; GAUCHARD F.; GARIN-BASTUJI B.; SALVAT G.; BRISABOIS A.; POUMEYROL M.; DE BUYSER M.-L.; GNANOU-BESSE N.; LAHELLEC C.. Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact on human health in France. *Livestock Production Science*, Amsterdam, v. 76, p. 195-202, 2002.

LOGUERCIO, A. P.; SILVA, W. P.; ALEIXO, J. A. G; COSTA, M. M.; VARGAS, A. C.. *Listeria monocytogenes*: um importante patógeno de origem alimentar. *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, p. 39-48, 2001.

LOU, Y., YOUSEF, A. E. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*, ET Ryser and EH Marth, New York: Marcel Dekker, Inc., p. 131-224, 1999.

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

MACGOWAN, A. P.; BOWKER, K.; McLAUHLIN, J. BENNETT, P. M. and REEVES D. S.. The occurrence and seasonal changes in the isolation of *Listeria* spp. in shop bought food stuffs, human feces, sewage and soil from urban sources. *Int. J. Food. Microbiol*, v. 21, p. 325–334, 1994.

PETERSON, M. E. Parameters for control of *Listeria monocytogenes* in smoked fishery products: sodium chloride and packaging method. *J. Food Prot.*, v. 56, p. 938-943, 1993.

PETRAN, R. L.; ZOTTOLA, E. A. A study affecting growth and recovery of *Listeria monocytogenes*. *Scott A. J. Food Sci*, v. 54, p. 458-460, 1989.

PORKWORLD. *Consumo de carne suína no Brasil atinge 15,1kg per capita*. 2011. Disponível em: <<http://www.porkworld.com.br/noticias/post/consumo-de-carne-suina-no-brasil-atinge-151kg-per-capita>>. Acesso em: 10 jan. 2013

PORTO, E. . Microbiologia de carnes. In: CASTILO, Carmem Josefina Contreras (Org.). *Qualidade da Carne*. São Paulo: Varela, 2006, p. 101-132.

POTES, M. E. Segurança alimentar em produtos tradicionais. *Rev. de Ciências Agrárias*, Lisboa, v. 30, n. 1, jan. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2007000100046&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 31 out. 2012.

ROCOURT, J. The genes *Listeria* and *Listeria monocytogenes*, phylogenetic, position, taxonomy and identification. In: RYSER, E. T. (Org.). *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, N. Y., 1999, p. 1-20.

RYSER, E. T., MARTH, E. H. The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification. In: *Listeria, Listeriosis, and Food Safety*. 2007. cap. 1, p. 1-12.

SAKATE, I. et al. Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 53, n. 2, p.184-187, 2003.

SANTOS, Loreane de Ana Guimarães dos et al. Detecção de *listeria monocytogenes* como subsídio à determinação de pontos críticos de controle no abate de suínos. *Bioscience Journal*, Universidade Federal de Uberlândia. v. 21, n. 2, 2005.

SEELIGER, H. P. H.; JONES, D. Genus *Listeria*. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S., Shape, M. E. *Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology*. 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986, v. 2, p. 1.235-1.245.

SHAHAMAT, M., SEAMAN, A.; WOODBINE, M. Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg., I. Abt. Orig. A* 246, 1980, p. 506-511.

SILVEIRA, E. T. F. Inovações tecnológicas aplicadas na suinocultura e suas implicações na indústria da carne. In: Ractopamina e imunocastração e seus efeito na qualidade de carcaça e carne. VI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES. *Anais...* São Pedro, SP, out./2011. Campinas, SP: ITAL/CTC, 2011.

TOMPKIN, R. B. et al. Control of *Listeria monocytogenes* in processed meats. *Food Aust.* v. 44, p. 370-376, 1992.

UNIÃO EUROPEIA. REGULAMENTO (CE) n. 1441/2007, de 5 de dezembro de 2007. Altera o Regulamento (CE) n. 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Européia*. Bruxelas, 07 dez. 2007.

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATIO. 2012. FDA NEWS RELEASE.

Disponível em:

<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm313743.htm>. Acesso em 28 dez. 2012

UNITED STATE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION; UNITED STATE FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE. 2003. Quantitative assessment of relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods.

Available in Docket n. 1999, v. 23-28. Disponível em:

<<http://www.fda.gov/downloads/food/scienceresearch/researchareas/riskassessmentsafetyassessment/ucm197330.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2012

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *Food Safety Inspection Service*, 2001. Disponível em:

<http://www.fsis.usda.gov/FACTSheets/Food_Safety_Security_Consumers/index.asp>.

Acesso em: 31 nov. 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Food safety and foodborne illness*. 2007. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/print.html>>. Acesso em: 12 ago. 2009.

4. ARTIGO

PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE *LISTERIA SP.* EM CARÇAÇAS SUÍNAS ANTES E APÓS O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CÂMARA FRIA

Search and quantification of Listeria monocytogenes in pig carcasses before and after the maturation process in cool chamber

RESUMO

A suinocultura brasileira passa por um momento histórico com a expansão de novos mercados, incluindo os estados-membros da União Europeia, Estados Unidos da América e Japão. Requisitos da legislação nacional e internacional, a respeito da higiene dos produtos de origem animal sinalizam a necessidade de direcionar ações a todos os segmentos da cadeia produtiva da carne suína, visando a proteção da saúde da população. O objetivo deste trabalho foi determinar e quantificar a presença de *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas antes e após a câmara fria. As coletas de materiais foram realizadas em um frigorífico localizado no Estado de Santa Catarina. Foram coletadas 226 amostras de carcaças. As coletas para análise foram por meio de esponja e a área de amostragem do esfregaço abrangeu uma área delimitada de 100 cm² por ponto de amostragem, totalizando uma área de 400 cm². Os pontos de coleta foram no pernil, lombo, barriga e papada. No laboratório, as amostras foram acrescidas de 100 mL de caldo de pré-enriquecimento UVM (Universidade de Vermont) e homogeneizadas no caldo. O caldo foi incubado a 30°C/24h e posteriormente repicado 0,1 mL da cultura para o caldo Fraser, e incubado a 36°C/24h. As amostras presuntivamente positivas foram repicadas para Ágar ALOA para isolamento (incubação a 36°C/24h). As colônias suspeitas foram identificadas por meio de provas bioquímicas e CAMP-teste. Para a quantificação foi utilizada a técnica de Número Mais Provável em série de 10 tubos. Das amostras analisadas 0,44% (1) foram positivas para *L. monocytogenes*, para antes e após a câmara fria. Houve aumento de carcaças suínas positivas para

Listeria sp. após a câmara fria, podendo esta ser considerada como um ponto de contaminação. Porém, não foi possível comprovar se houve aumento do número de *Listeria* sp. na carcaça suína após a câmara fria.

Palavras-chaves: *Listeria monocytogenes*. Carcaça. Câmara fria. Suíno.

ABSTRACT

*The Brazilian swine production goes through a historic moment attempting to develop new markets, including the member states of the European Union, United States and Japan. Requirements of national and international law, about the hygiene of products of animal origin signal the need for direct actions to all segments of the supply chain of pork for protecting health of the population. The objective of this study is to determine and quantify the presence of *Listeria monocytogenes* in pig carcasses before and after the cool chamber. Material sampling was carried out at one processing plant located in the State of Santa Catarina. 226 samples were collected from carcasses. Sampling was performed by means of sponge and the smear sampling area which covered a defined area of 100 cm² per sampling, totaling an area of 400 cm². The points were in the ham, loin, belly and jowl. At the laboratory, samples were added to 100 ml of pre-enrichment broth UVM (University of Vermont) and homogenized in the broth. The broth was incubated at 30° C/24h and subsequently peaked 0.1 ml of culture to Fraser broth and incubated at 36° C/24h. The samples presumptively positive were peaked for ALOA Agar for isolation (incubation at 36° C/24h). The suspected colonies were identified by biochemical tests and test-CAMP. For quantification we used the technique of Most Probable Number. From the samples analyzed within the establishments A, 0.44% (1) samples were positive for *Listeria monocytogene*. An increase of positive results for *Listeria* sp. was found on the pig carcasses after passing the cold chamber. In this sense, it could be considered a contamination point. However, the results did not show an increase on the number of *Listeria* sp. on the carcasses after passing the cold chamber.*

Keywords: *Listeria monocytogenes*. Carcasses. Cool Chamber. Pig.

INTRODUÇÃO

Estudos da legislação brasileira e dos requisitos internacionais, a respeito da higiene dos produtos de origem animal, sinalizam a necessidade de direcionar ações a todos os segmentos da cadeia produtiva da carne suína, visando à proteção da saúde humana. Atualmente, entre os agentes infecciosos de maior interesse para a saúde pública está a *Listeria monocytogenes*, responsável por alto índice de letalidade em populações de risco, como pacientes imunocomprometidos, idosos e gestantes. Por isso, a segurança alimentar deve incluir medidas para garantir a máxima segurança dos alimentos. Políticas e ações destinadas a este fim devem abranger toda a cadeia alimentar, desde a produção primária até o consumidor final. Na cadeia produtiva da carne suína, o controle de processo deve assegurar uma abordagem preventiva, para evitar que a *L. monocytogenes* se torne risco à saúde pública e uma barreira às comercializações. A carcaça suína é amplamente utilizada como matéria-prima na fabricação de produtos cárneos curados, fermentados e maturados. Não há garantias que o processo de obtenção desses produtos seja capaz de eliminar a presença de *L. monocytogenes*. Na produção primária, o resfriamento da carcaça suína é uma etapa obrigatória. Diretrizes brasileiras e internacionais estabelecem tempo e temperaturas de resfriamento, visando o controle referente aos aspectos microbiológicos e tecnológicos da produção da carne suína. A determinação e quantificação da *L. monocytogenes* na entrada e na saída da câmara de resfriamento de carcaças é importante para determinar a situação sanitária atual das carcaças antes e após o resfriamento e, a partir disso, propor programas de controle em pontos específicos da cadeia produtiva.

A proposta deste trabalho foi fornecer dados para enriquecer a pesquisa sobre *Listeria monocytogenes* na cadeia produtiva da carne suína. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo determinar e quantificar a presença de bactérias do gênero *Listeria*, especialmente, *Listeria monocytogenes* na carcaça suína antes e após o processo de resfriamento em câmara fria em um frigorífico do estado de Santa Catarina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento experimental

O estudo foi conduzido em um frigorífico localizado no estado de Santa Catarina, entre o período de maio de 2011 até março de 2012. Para a escolha do estabelecimento foram utilizados critérios como disponibilidade em participar do projeto, registros em sistema de inspeção federal (SIF) e resfriamento das carcaças em câmara fria por um período mínimo de 12 horas.

Quarenta e cinco ciclos de amostragem (visitas) foram realizados no estabelecimento, acompanhando um dia de trabalho. Em cada dia, são abatidos em média 2000 animais. Em cada ciclo, foram colhidas superfícies de cinco carcaças antes do resfriamento e cinco carcaças após o resfriamento, totalizando uma amostragem de 113 superfícies de carcaças antes e 113 superfícies de carcaças após o resfriamento em câmara fria. O número de carcaças amostradas foi determinado considerando que dados de ocorrência publicados anteriormente (Pissetti, 2012) encontram 5,5% de carcaças positivas para *L. monocytogenes*. Considerando essa frequência, a amostragem de 113 carcaças antes e 113 carcaças após o resfriamento foram suficientes para detectar ao menos 1 (uma) carcaça positiva para *L. monocytogenes*, em um intervalo de confiança de 95% (Thrusfield, 2004).

A título de monitoramento, durante as visitas também foram realizadas colheitas ambientais do interior da câmara fria em quatro pontos distintos: porta, parede, chão, e barras de proteção (ferro galvanizados), totalizando 60 amostras ambientais (15 amostras em cada ponto ambiental).

As amostras colhidas foram analisadas quanto a presença e quantificação de *Listeria* sp. na área amostrada por carcaça e das amostras ambientais do interior da câmara fria, foram analisadas apenas quanto a presença de *Listeria* sp.

Colheita das amostras

Para amostragem de superfície de carcaça na entrada e na saída da câmara fria, do mesmo lote foram colhidas amostras de cinco carcaças. A colheita das amostras foram realizadas por esponjas individuais estéreis, previamente

umedecidas com um solvente constituído de 0,1% peptona + 0,85% NaCl estéril. As esponjas foram friccionadas em quatro diferentes áreas de 100 cm² (pernil, lombo, barriga e papada), delimitada por um molde estéril, totalizando 400 cm² de área amostrada por carcaça, de acordo com a circular nº 130/2007/CGPE/DIPOA (BRASIL, 2007). Em seguida, as quatro esponjas colhidas foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, representando a carcaça amostrada e transportada em caixa isotérmica ao laboratório de Centro de Diagnóstico de Microbiologia Animal (CEDIMA), da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Para a amostragem da superfície ambiental do interior da câmara fria (chão, parede, teto e barras de proteções), a colheita foi realizada por meio de esponjas umedecidas com um solvente constituído de 0,1% peptona + 0,85 % NaCl estéril em pontos distintos delimitados em 100 cm² do interior da câmara fria: chão, parede, porta e barras de proteção (ferro galvanizado). Em seguida, cada esponja representando uma área de 100 cm² foi acondicionada em saco plástico estéril, representando o ponto ambiental amostrado e transportada em caixa isotérmica ao laboratório de Centro de Diagnóstico de Microbiologia Animal (CEDIMA), da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Análises Laboratoriais

No laboratório, a população de *Listeria* sp. foi determinada utilizando-se a metodologia preconizada pela ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004, com modificação no caldo de pré-enriquecimento, onde utilizou-se o Caldo Universidade de Vermont (UVM) no lugar do Caldo Demi-Fraser. *L. monocytogenes* ATCC 7644 foi utilizada como controle para todos os procedimentos e a técnica do Número Mais Provável (NMP), de acordo com o descrito por Garthright, 1998.

Em cada amostra adicionou-se 100 mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (UVM). Após homogeneização, o caldo foi transferido em alíquotas de 10 mL para séries de 10 tubos, foram incubados a 30°C por 24h. Alíquotas de 0,1mL foram transferidas para tubos contendo caldo Fraser, que foram incubados a 36°C por 24-48h.

A partir de cada tubo de caldo Fraser enegrecido (positivo), procedeu-se à semeadura em placas de ágares ALOA, que foram incubadas a 36 °C por 48h. Uma colônia típica de cada placa foram purificadas em ágar soja triptona adicionado de

0,6% de extrato de levedura (TSA-YE) e submetidas aos testes de produção de catalase, de hemólise, fermentação de dextrose, xilose, ramnose e manitol e motilidade em ágar semi sólido a 25 °C.

Após a confirmação das cepas do gênero *Listeria*, calculou-se o Número Mais Provável por grama (NMP/100l) do micro-organismo, consultando-se a tabela de NMP (Garthright, 1998).

Análise estatística

Os resultados encontrados foram analisados estatisticamente através do teste não-paramétrico qui-quadrado (χ^2), com nível de significância de 0,05 do pacote estatístico SAS (1999).

RESULTADOS

As amostras de 226 carcaças suínas analisadas neste frigorífico apresentaram uma prevalência de *L. monocytogenes* de 0,44% (1). As amostras analisadas das carcaças na entrada da câmara fria do estabelecimento não apresentaram positividade (0/113) para *L. monocytogenes*, enquanto que na saída da câmara fria 0,88% (1/113) das carcaças foram positivas para *L. monocytogenes*.

O gênero *Listeria* foi isolado em 10,62% (12/113) das carcaças que entraram para o resfriamento em câmara fria, sendo a *L. innocua* a mais frequente, já na saída da câmara fria, 30,97% (35/113) carcaças foram positivas para *Listeria* sp. (Tabela 01). Estatisticamente, houve diferença significativa no aumento do número de carcaças com presença de *Listeria* sp. na saída da câmara fria ($p=0.0002$), em relação à entrada.

Tabela 01: Número de carcaças positivas para *Listeria* sp. na entrada e saída da câmara fria em um frigorífico do Estado de Santa Catarina, 2011 - 2012.

Espécies de <i>Listeria</i>	Entrada da câmara fria	Saída da câmara fria
<i>L. innocua</i>	12/113 (10,62%)	19/113 (16,81%)
<i>L. monocytogenes</i>	0/113	1/113 (0,88%)
<i>L. seeligeri</i>	0/113	3/113 (2,65%)
<i>L. welshmeri</i>	0/113	12/113 (10,62%)
Total	12/113 ^a (10,62%)	35/113 ^b (30,97%)

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Em relação às amostras ambientais do interior da câmara fria, observou-se uma frequência de 65% (39/60) de pontos positivos para *L. innocua*, ao contrário não foram isoladas outras espécies no ambiente da câmara fria. Estratificando a frequência encontrada temos: Barra de proteções: 33,33% (5/15); Chão: 100% (15/15); Parede: 80% (12/15) e Porta: 46,67% (7/15).

Para os resultados quantitativos de *Listeria* sp. nas carcaças (tabela 03), não houve diferença significativa na contagem do número de *Listeria* sp. ($p=0,2829$) nas carcaças na entrada em relação às carcaças na saída da câmara fria. Embora não tenha diferença significativa nesta contagem, observa-se uma tendência no aumento da contagem de *Listeria* sp. nas carcaças que saem da câmara fria em relação a entrada.

Tabela 03: Quantificação de *Listeria* sp. em carcaças suínas na entrada e saída da câmara fria, em um estabelecimento do estado de Santa Catarina, 2011 – 2012.

NMP de <i>Listeria</i> sp. em 400 cm ² de amostra	Entrada	Saída
< 1	100	79
1.1	10	16
2.2	2	12
3.6	0	2
5.1	0	4
6.9	0	0
9.2	1	0
12	0	0
16	0	0
23	0	0
> 23	0	0

DISCUSSÃO

Neste estudo, demonstrou-se a ocorrência de patógenos causadores de doenças transmitidas por alimentos, como é o caso da *L. monocytogenes*. A frequência de isolamento de 0,44%, foi menor do que observado em outras estudos conduzidos em: São Paulo (0,83%), Minas Gerais (1,66%), Rio Grande do Sul (3,33%) e Santa Catarina (19,8%) (HOFER et. al., 2006; SANTOS et.al., 2003; FERRONATTO et al., 2012 e PISSETTI et. al., 2012). A qualidade da matéria-prima (suíno vivo), estruturas de equipamentos e instalações, boas práticas de processamento e a própria metodologia de colheita e isolamento são fatores que podem contribuir para as diferenças entre os resultados encontrados neste estudo comparando com os achados por HOFER et. al., 2006; SANTOS et.al., 2003; FERRONATTO et al., 2012 e PISSETTI et. al., 2012.

Uma importante fonte de contaminação da linha do abate é o próprio animal vivo, estudos realizados por Skovgaard & Norrung (1989) encontraram *L. monocytogenes* em fezes e na pele de suínos saudáveis em frequências que podem variaram de 0 a 47%. O patôgeno também foi detectado em raspados de tonsilas, em estudo realizado por Kanuganti et al. (2002).

Yokoyama *et al.* (2005), colheu 250 amostras de conteúdo de ceco de suínos e isolou 29,6% (74/250) amostras positivas para *L. monocytogenes*. A prevalência de suínos portadores deste patógeno pode aumentar a chance da contaminação do produto final. É provável que alimentos contaminados têm sua origem no frigorífico. Pissetti *et al.* (2012), sugerem que a contaminação de carcaças pelo micro-organismo ocorra a partir do extravasamento do conteúdo intestinal na linha de abate. Portanto, é fundamental que as etapas de liberação e oclusão do reto sejam criteriosamente monitoradas. A etapa de oclusão do reto é obrigatória, de acordo com a portaria nº 711/CGPE/DIPOA (BRASIL, 1995), e é extremamente importante para evitar o extravasamento do conteúdo fecal na carcaça, durante o seu trajeto pela linha de abate.

Por outro lado, outros estudos demonstram que há maior frequência de *L. monocytogenes* em tonsilas do que no intestino, sendo o contato dos tecidos da cabeça com a carcaça a forma de contaminação mais provável (THEVENOT *et al.*, 2006). Contribuindo para isto, a falta de esterilização dos equipamentos e o não cumprimento do rodízio dos instrumentos (facas, serras e tesouras) a cada suíno, conforme preconizado pela portaria 711/CGPE/DIPOA (BRASIL, 1995), também são fatores que podem contribuir diretamente na contaminação cruzada durante o processo de abate.

Durante as visitas para a coleta de dados, foi observado que os operários não efetuavam a troca de utensílios a cada operação. Procedimentos como esterilização dos utensílios (facas, serras e tesouras) a cada operação são essenciais para prevenir as contaminações cruzadas. A temperatura da água dos esterilizadores e o tempo de contato do utensílio com a água devem ser monitorados, ao contrário, não há garantia que o procedimento foi realizado adequadamente (BRASIL, 2005). A temperatura mínima da água dos esterilizadores deve ser superior ou igual a 82°C (BRASIL, 1995). Portanto, o próprio ambiente do frigorífico oferece condições favoráveis para sobrevivência e multiplicação da bactéria.

Cepas de *L. monocytogenes* podem ser encontradas em superfícies, mesmo que estas sejam diariamente higienizadas (CARPENTIER & CERF, 2011), devido sua característica de fácil adesão e formação de biofilme, fazendo com que o micro-organismo sobreviva a ação de desinfetantes (OLIVEIRA *et al.*, 2010) e conseqüentemente permaneça no ambiente da indústria e isto, faz com que haja o

risco de contaminação cruzada de alimentos durante o processamento, aumentando o risco de ocorrência de surtos (KUNIGK & ALMEIDA, 2001).

Além da *L. monocytogenes*, foram isoladas outras espécies neste estudo, das 113 carcaças analisadas na entrada da câmara fria, 10,62% (12/113) foram positivas para *L. innocua*. Embora a *L. innocua* não seja patogênica, sua presença em ambientes industriais não deve ser subestimada; esta pode ser indicativa de presença de outras espécies, incluindo a *L. monocytogenes*. Vitas, Aguado e Garcia-Jabon (2004) relatam que a presença de espécies não patogênicas pode ser interpretada como indicativo de condições adequadas para a presença de outras espécies patogênicas.

Outras autores (FERRONATTO et al., 2012; SILVA et al., 2012; BARROS et al., 2007; WALSH et al., 1998) citam a *L. innocua* como sendo a mais comumente encontrada em alimentos e ambiente industriais. A contaminação da carcaça suína na entrada da câmara fria representa contaminações durante as principais etapas do abate. Faber e Peterkin (1991) descrevem que a *Listeria sp.* pode ser isolada de carcaças nas etapas do abate em animais sadios e/ou doentes que podem veicular esta bactéria. Por isso, as condições higiênico-sanitárias das operações devem ser garantidas por meio de procedimentos sanitários operacionais que visem minimizar as contaminações cruzadas durante as etapas de abate, por intermédio de ações preventivas no processo e no produto.

Estatisticamente, houve diferença significativa no aumento do número de carcaças com presença de *Listeria sp.* na saída da câmara fria ($p=0.0002$), em relação à entrada. O aumento de 20,35% (23) na incidência de *Listeria sp.* no processo de resfriamento das carcaças demonstra que este é um importante ponto do processo que deve ser observado. O caráter psicotrófico do gênero *Listeria* e as contaminações cruzadas no interior da câmara podem ser a resposta para o aumento de carcaças contaminadas na saída da câmara fria, comparada com a porcentagem de carcaças contaminadas na entrada da câmara fria. Mc Mullen (2000), Williams e Golden (2001) afirmam que a temperatura de refrigeração não é suficiente para controlar essa bactéria. O ambiente das plantas processadoras de alimentos tem recebido atenção dos pesquisadores, uma vez que ele pode contribuir para contaminação dos produtos finais através da contaminação cruzada (PRITCHARDT et al., 1995). A presença de *Listeria sp.* na carcaça suína pode estar

correlacionada com a detecção desta em salames (NISSEN, HOLCK, 1998; CAMPANINNI et al., 1993; LAHTI et al., 2001).

Este resultado sugere contaminações cruzadas no interior da câmara fria. Essas contaminações podem surgir a partir de falhas de boas práticas de fabricação dos operadores que manipulam as carcaças no interior da câmara e/ou por água residual que, por falhas na ventilação interna, pode se tornar condensada e esta, por sua vez, goteja sobre as carcaças.

O espaçamento entre as carcaças e entre as estruturas é um ponto que deve ser monitorado pelos estabelecimentos, pois ao longo do percurso realizado no interior da câmara pode carrear contaminações de um ponto para outro (carcaças/estruturas/manipuladores). Os resultados das amostras ambientais colhidas durante as visitas demonstram as contaminações no interior da câmara. O estabelecimento visitado possui apenas uma câmara para resfriamento de carcaças. Essa realidade deve ser reavaliada, pois a limpeza da câmara não é realizada todos os dias. Conforme a portaria 711/CGPE/DIPOA (BRASIL, 1995), a carcaça deve ser resfriada por um período mínimo de 12 horas, a uma temperatura ambiente entre -1°C a 1°C ; esses parâmetros fazem da câmara um ambiente favorável para o crescimento de *L. monocytogenes*. Trabalhos realizados por Gandhi e Chikindas (2007), Martinis e Franco (1998), Swaminathan e outros (2007), Thévenot e outros (2006) e Zuliani e outros (2007), descrevem a temperatura próxima a 0°C como condição favorável para o crescimento da *L. monocytogenes*. Portanto, o procedimento de limpeza e sanitização desses estabelecimentos devem ser executado em uma frequência que garanta as condições higiênico-sanitárias no interior da câmara.

Para os resultados quantitativos de *Listeria sp.* nas carcaças, não houve diferença significativa na contagem do número de *Listeria sp.* ($p=0,2829$) nas carcaças na entrada da câmara fria em relação às carcaças na saída da câmara fria. Entretanto observa-se uma tendência no aumento do número de carcaças com quantificação entre 1.1 – 2.2 NMP/400cm². Dados sobre a população de *Listeria sp.* em carcaça suína são escassos. A maioria dos estudos refere-se a presença ou ausência do micro-organismo. Segundo Sakate *et al.* (2003) o plaqueamento direto em ágar seletivo de alíquotas do produto pode não ser eficaz pois as células de *Listeria sp.* podem estar estressadas ou podem estar presentes em número pequeno, não sendo possível sua enumeração. A técnica de Número Mais Provável

permite a recuperação das células estressadas e a detecção do micro-organismo mesmo quando a população é baixa. Entretanto é laboriosa e de alto custo.

Nos estudos onde a população foi avaliada, os dados são bem variados. Na Austrália, Grau e Vanderlinde (1992) enumeraram *L. monocytogenes* em 130 amostras de produtos cárneos embalados a vácuo e encontraram populações maiores que 1000 UFC/g em sete amostras. No Brasil, um estudo realizado por Sakate et. al., (2003) encontrou em amostras de salame populações de *L. monocytogenes* que ficaram entre <0,3 NMP/g – 9,2NMP/g. (séries de três tubos). Já em 2001, Schmidt encontrou *L. monocytogenes* em 17% das amostras de embutidos cozidos embalados à vácuo. As populações variam entre <100UFC/g e 200 UFC/g.

Embora a câmara fria não tenha aumentado ou diminuído a contagem de *Listeria sp.*, nas carcaças, é muito importante que medidas preventivas sejam tomadas no processo (estrutura/equipamentos/operadores) e no produto antes que as carcaças possivelmente contaminadas entrem na câmara fria. A enumeração aparentemente baixa, encontrada neste trabalho deve ser tratada com cautela, pois a dose infectante para causar a listeriose ainda não é conhecida e a carcaça suína sendo amplamente utilizada como matéria prima na obtenção de produtos cárneos, pode ser veículo deste patógeno ao homem.

CONCLUSÃO

Houve aumento de carcaças suínas positivas para *Listeria sp.* após a câmara fria, podendo esta ser considerada como um ponto de contaminação. Porém, não foi possível comprovar se houve aumento do número de *Listeria sp.* na carcaça suína após a câmara fria.

REFERÊNCIAS

BARROS, M. A. F. et al. *Listeria monocytogenes*: occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. *Meat Science*, v. 76, p. 591-596, 2007.

BRASIL. Circular n. 175/2005/CGPE/DIPOA. Procedimentos de Verificação dos Programas de Autocontrole (Versão Preliminar). Brasília, DF: 16 maio de 2005. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/Legislacoes/circ1752005.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2012

_____. Portaria n. 711, de 1º de novembro de 1995. Aprova as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF: 3 nov. 1995.

CAMPANINNI, M et al. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*. v. 20, p. 169-175, 1993.

CARPENTIER, B.; CERF, O. Review – Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 1-8, Jan, 2011.

FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*: a food-borne pathogen. *Microbiological Reviews*, v. 55, n. 3, p. 476-511, 1991.

FERRONATTO, Andréia Inês et al. Distribuição de grupos clonais de *Listeria Monocytogenes* em carcaças e no ambiente de matadouros frigoríficos de suínos. *Archives of Veterinary Science* v. 17, n. 3, p. 42-49, 2012.

GRAU F.H., VANDERLINE P.B. Occurrence, numbers, and growth of *Listeria monocytogenes* on some vacuum-packaged processed meats. **Journal Food Protection**. 1992; 55: 4-7.

GARTHRIGHT W.E. Most Probable Number from Serial Dilutions In: Bacteriological Analytical Manual – FDA 8th Ed. Revision A – AOAC International, USA, Appendix 2, 1998. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm109656.htm>. Acesso em: 21 jan. 2013.

HOFER, Ernesto; REIS, Cristhiane Moura Falavina dos; HOFER, Cristina Barroso. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 1, fev. 2006 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822006000100006&script=sci_arttext>. Acesso em: 9 fev. 2013.

KANUGANTI, S. R.; WESLEY, I. V.; REDDY, P. G.; MCKEAN, J.; HURD, H. S. Detection of *Listeria monocytogenes* in pigs and pork. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 9, p. 1470-1474, 2002.

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

LATHI, E et al. Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. **Food Microbiol**, v. 18, p. 75-85, 2001.

MCMULLEN, L.M. Intervention strategies to improve the safety of pork. *Advances in Pork Production*, n. 11, p. 165-173, 2000.

NISSEN, H.; HOLCK, A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella kentucky* in Norwegian fermented, dry sausage. **Food Microbiology**, n. 15, p. 273-279, 1998.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; ALVES, E.; PICCOLI, R. H. Biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface and biotransfer potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 97-106, 2010.

PISSETTI, C.; WERLANG, G. O.; BIESUS, L. L.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. de I. Detecção de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 4, p. 1071, 2012.

PRITCHARD, T. J.; FLANDERS, R. J.; DONNELLY, C. W. Comparison of the incidence of *Listeria* on equipments versus environmental sites within dairy processing plants. **International Journal of Food Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 375-384, 1995.

SAKATE, R. I, ARAGON, L. C., RAGHIANTE, F., LANDGRAF, M., FRANCO, B. D. G. M., DESTRO, M. T. "Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo". **ALAN**, Caracas, v. 53, n. 2, jun. 2003 . Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222003000200010&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 12 abr. 2013.

SANTOS, L. A. G.. Pesquisa de *Listeria sp.* em carcaças suínas como subsídio ao sistema APPCC. In: I CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS; VII CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, *Anais...* 2003, BELO HORIZONTE, 2003.

SAS SOFTWARE. Version 9.1. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc., 1999.

SCHMIDT U., KAYA M., Bedeutung des Vorkommens von Listerien bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. Apud: Becker B, Trierweiler B, Fechler J, Holzapfel WH. Presence of *L. monocytogenes* in samples of cooked sausages, Proceedings of the XIV ISOPOL; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany. p. 132-5.

SILVA, Wladimir Padilha da et al. *Listeria spp.* no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 911-916, 2004.

SKOVGAARD, N.; NORRUNG, B. The incidence of *Listeria spp* in feces of Danish pigs and in minced pork meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 59, n. 8, 1989.

THEVENOT, D.; DERBURG, A.; VERNIZY-ROZAND, C. An update review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. **Journal of Applied Microbiology** v. 101, p. 7-17, 2006.

THRUSFIELD, M. V. *Epidemiologia Veterinária*. São Paulo: Roca, 2004.

VITAS, A. I.; AGUADO, U.; GARCIA-JALON, I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 90, n. 30, p. 349-356, 2004.

YOKOYAMA, E.; SAITOH, T.; MARUYAMA, S.; KATSUBE, Y. The marked increase of *Listeria monocytogenes* isolation from contents of swine cecum. **Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases**, v. 28, n. 4, p. 259-268, Jul, 2005.

WALSH, D. et al. Comparison of selective and non selective media for the isolation of *Listeria* species from retail foods. *Journal Food Safety*, v. 18, p. 85-89, 1998.

WILLIAMS, R. C.; GOLDEN, D.A. Influence of modified atmospheric store, lactic acid, and NaCl on survival of sublethally heat-injured *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, St. Louis, MO, USA, v. 64, n. 3, p. 379-389, 2001.