



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

" *Listeria monocytogenes* - Determinação dos pontos críticos de controlo na produção de queijo de Castelo Branco "

Eng.^a Produção Animal
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Sandra Isabel Nunes Filipe

CASTELO BRANCO

1996

ÍNDICE

	Páginas
AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
ABREVIATURAS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE TABELAS.....	V
ÍNDICE DE QUADROS	V
I - INTRODUÇÃO	2
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1 - Exploração de Ovinos na Beira Baixa.....	4
1.1. Caracterização edafo-climática.....	4
1.1.1. Caracterização Geológica.....	4
1.1.2. Caracterização Climática.....	4
1.2. A Ovinicultura na Região de Castelo Branco - Raças exploradas.....	5
1.3. Produção de leite de ovelha na Região Demarcada do Queijo da Beira Baixa.....	6
1.3.1. Raça Merino da Beira Baixa.....	7
1.3.1.1. Duração dos períodos de lactação e ordenha.....	8
1.4. Composição e características gerais do leite de ovelha.....	9
1.5. Produção de queijo na Região Demarcada do Queijo da Beira Baixa.....	10
1.5.1. Tipos de queijo com denominação na Região Demarcada dos Queijos da Beira Baixa.....	11
1.5.2. Caracterização do Queijo de Castelo Branco.....	12
1.5.2.1. Características Físico - Químicas.....	12
1.5.2.2. Leite utilizado.....	13
1.5.2.3. Coagulação.....	13
1.5.2.4. Agente coagulante.....	14
1.5.2.5. Trabalho da coalhada.....	15
1.5.2.6. Pré-prensagem.....	16
1.5.2.7. Encinchamento.....	16
1.5.2.8. Prensagem.....	16

1.5.2.9. Salga.....	16
1.5.2.10. Cura ou Maturação.....	17
2. <i>Listeria monocytogenes</i> e outras <i>Listeria</i> sp.....	20
2.1. Apontamento Histórico.....	20
2.2. Taxonomia.....	20
2.3. Morfologia.....	21
2.4. Exigências de crescimento.....	21
2.5. Características Bioquímicas.....	22
2.6. Tipagem.....	23
2.6.1. Serotipagem.....	23
2.6.2. Lisotipagem.....	24
2.7. Patogenicidade.....	25
2.8. Listeriose em animais.....	26
2.9. Modos de transmissão.....	27
2.10. Listeriose em Humanos.....	28
2.10.1. Incidência.....	28
2.10.2. Surtos epidémicos.....	29
2.10.3. Susceptibilidade e Resistência à infecção.....	30
2.10.4. Sintomas.....	30
2.11. Prevenção e Controlo.....	32
2.11.1. Fontes de contaminação.....	32
2.11.2. Prevenção nas explorações.....	32
2.11.3. Prevenção nas queijarias.....	33
2.11.4. Controlo.....	34
III - MATERIAL E MÉTODOS.....	37
1. Métodos de Amostragem.....	37
1.1. Leite cru.....	37
1.2. Cardo e Salmoura.....	37
1.3. Água.....	37
1.4. Zaragatoas ao equipamento e provas de esterilidade ao ar.....	37
1.5. Queijo.....	38
2. Meios de cultura, Reagentes e Culturas microbiológicas.....	39
2.1. Caldos de enriquecimento.....	39
2.1.1. " Modified Fraser Broth" (mFB).....	39
2.1.2. "Buffered Listeria Enrichement Broth" (bLEB).....	40
2.2. Meio de isolamento - Gelose de Oxford.....	40
2.3. Agar de Triptona e Soja com Extracto de Levedura (TSYEA).....	41

2.4. Caldo de Triptona e Soja com Extracto de Levedura (TSYEB).....	41
2.5. Reagente da Catalase.....	42
2.6. Gelose de Sangue.....	42
2.7. Meio para o teste de CAMP.....	43
2.8. Culturas microbiológicas utilizadas no teste de CAMP e no teste da hemólise.....	43
2.9. Sistema de identificação bioquímica miniaturizado.....	43
3. Métodos utilizados na detecção e isolamento de <i>Listeria monocytogenes</i>	44
3.1. Enriquecimento e isolamento.....	44
3.1.1. Leite cru, queijo, cardo, salmoura e água.....	44
3.1.2. Zaragatoas.....	45
3.2. Identificação bioquímica e morfológica.....	45
3.2.1. Teste da Catalase.....	45
3.2.2. Coloração de Gram.....	45
3.2.3. Teste de Mobilidade em TSYEB.....	46
3.2.4. Teste de Hemólise.....	46
3.2.5. Teste de CAMP.....	46
3.2.6. Sistema de Identificação Bioquímica Miniaturizado.....	47
3.3. Confirmação definitiva e Tipagem.....	47
IV. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	49
1. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> em leite cru de ovelha.....	49
2. Pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> em cardo.....	51
3. Pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> em salmoura.....	51
4. Pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> em água.....	52
5. Pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> em zaragatoas.....	52
5.1. Na fábrica.....	52
5.2. Nas explorações.....	54
6. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> no queijo ao longo do processo de cura.....	55
V - CONCLUSÕES.....	56

BIBLIOGRAFIA

ANEXO I - Regras de produção do Queijo de Castelo Branco

ANEXO II - Protocolo do API-*Listeria*

ANEXO III - Testes efectuados às amostras / zaragatoas cujos resultados foram positivos na pesquisa de *Listeria* sp.

ANEXO IV - Resultados enviados pelo Instituto Pasteur de Paris relativos à lisotipagem e à confirmação da identificação das estirpes de *Listeria* sp.

RESUMO

Este trabalho de investigação teve como principal objectivo detectar a incidência de *Listeria monocytogenes* numa fábrica produtora de queijo de Castelo Branco.

A pesquisa desta bactéria foi feita no leite cru de ovelha (fornecido por 19 produtores durante o período de Janeiro a Julho de 1995), no cardo, salmoura, água utilizada em 4 explorações, a 15 queijos (nas diferentes fases de cura), às mãos dos ordenhadores de 4 explorações, e também a todo o material que contactou com o leite antes e durante o fabrico do queijo.

Os resultados obtidos revelaram a presença da bactéria no queijo e na salmoura, e em 9.5% dos leites.

Nos testes efectuados ao ambiente registou-se uma elevada percentagem de isolamentos, não só de *Listeria monocytogenes*, como também de outras espécies deste género. As percentagens obtidas foram de 20% na sala de fabrico, 31.3% na sala de lavagens e de 4.8% nas câmaras de cura.

Pensamos que se devem ter em conta, na produção da Queijo de Castelo Branco os seguintes pontos críticos de controlo: a higiene de ordenha e ambiente, o leite cru de ovelha, a refrigeração e transporte do leite, a higiene na fábrica e utensílios de fabrico, a salmoura e a lavagem dos queijos.