



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Relatório de Estágio

**Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em
alimentos e monitorização da higiene em
estabelecimentos alimentares**

Carla Sofia Alves Rodrigues
Curso de Engenharia Biológica e alimentar

Orientador Interno: Dr.^a Cristina Pintado
Orientador Externo: Eng.^a Vânia Mota

Castelo Branco, Novembro 2009

**“ As doutrinas expressas neste trabalho são
da inteira responsabilidade do seu autor.”**

Titulo: Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em alimentos e monitorização da higiene em estabelecimentos alimentares.

Local de realização do estágio: Inbioside

Orientador Interno: Dr.^a Cristina Pintado

Orientador Externo: Eng.^a Vânia Mota

Agradecimentos

Ao terminar este trabalho e esta etapa da minha vida não poderia deixar de agradecer a algumas pessoas que me ajudaram nesta longa caminhada...

À Dr.^a Cristina Pintado, por ter aceite ser minha orientadora interna, pela ajuda e disponibilidade demonstrada para me receber na escola para tirar dúvidas sobre o relatório escrito e pela ajuda para o escrever, pelos conhecimentos transmitidos e pela leitura e crítica do trabalho.

À Eng.^a Vânia Mota, por me ter aceite na Inbioside para a realização do meu estágio curricular, pela ajuda, pela forma como me recebeu e me integrou na empresa, disponibilidade, pelos conhecimentos transmitidos que foram uma mais valia para a minha carreira profissional, pela confiança, pela ajuda na procura de informação e pela leitura e crítica do manuscrito.

Aos meus pais por todo o carinho, amor, compreensão, ajuda, força e sacrifício ao longo desta caminhada... sem vocês nada disto seria possível.

Ao Filipe por todo o amor incondicional, carinho, força, alegria transmitida e por todo o tempo ao longo desta caminhada que estive longe de ti para a concretização de um sonho e para uma concretização a nível profissional... Obrigado!

À Cláudia e à Mariline, as minhas grandes amigas do coração, obrigado pela amizade, ajuda, ombro amigo, força, a alegria, por todos os bons momentos que passamos juntas nestes 4 anos...Obrigado por tudo de coração.

À minha irmã e ao meu cunhado pelo carinho, apoio, incentivo, ajuda, pelas palavras amigas... e pelo alojamento, a vossa ajuda foi fundamental para a realização deste estágio!

Ao meu sobrinho, pelo carinho, pela alegria transmitida e pelo sorriso sempre lindo no rosto!

À Gracinda e á Marta pela amizade, ajuda, apoio, carinho, pelos bons momentos que partilhamos, pela forma como me integraram e me receberam na empresa, pelos conhecimentos transmitidos... e pelas gargalhadas!

Aos meus grandes amigos, Sónia, Ângela, Hélder, Mafalda pela boa disposição, amizade, incentivo e ajuda e pelos grandes momentos de alegria e convívio.

A todos que directa ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em alimentos e monitorização da higiene em estabelecimentos alimentares

Carla Sofia Alves Rodrigues

Resumo

Este trabalho foi realizado no laboratório da InBioSide, em Famalicão, durante um período de três meses (Junho a Setembro de 2009), tendo como principal objectivo a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em diversos alimentos e a monitorização da higiene em estabelecimentos alimentares, através da análise de superfícies e mãos dos manipuladores de alimentos e também através da avaliação da eficácia dos detergentes utilizados nas indústrias alimentares.

Foram analisadas 24 amostras de alimentos, que incluíam ultracongelados de carne e peixe e produtos transformados de carne, para a pesquisa de *Listeria monocytogenes*. Das 24 amostras analisadas apenas uma foi positiva para *Listeria monocytogenes* e uma segunda amostra foi positiva para *Listeria* spp.

No caso das superfícies, foram colhidas 20 amostras tendo 25% apresentado resultados satisfatórios, 30% aceitáveis e 45% não satisfatórios.

Para a análise microbiológica das mãos dos manipuladores de alimentos foram colhidas 10 amostras. Os resultados obtidos foram não satisfatórios para todas as amostras. Em 7 das 8 amostras analisadas verificou-se a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, situação que por si só permite classificar a amostra como não satisfatória.

Foram ainda testados 5 detergentes/desinfectantes, utilizando 5 bactérias, através do método dos discos. Destes 5 detergentes só um deles (w4), na concentração de 1:100, não se mostrou eficaz. Os restantes detergentes (w1, w2, w3 e w5) mostraram-se eficazes na inibição das bactérias testadas.

Palavras – chave: *Listeria monocytogenes*, método de difusão dos discos, manipuladores, superfícies, higiene.

Presence of *Listeria monocytogenes* in food products and monitoring the hygiene in food establishments

Carla Sofia Alves Rodrigues

Abstract

This work was took in Inbioside laboratory, in Famalicão, for a period of three months (from June to September 2009) and its main goals were the research of *Listeria monocytogenes* in several foodstuffs and overseeing hygiene in establishments through the analysis of microbiological quality of surfaces and hands of operators of foodstuffs and also through the efficiency of detergents used in food industries.

For the detection of *Listeria monocytogenes*, twenty-four samples of foodstuffs were analysed and they included ultrafrozen meat and fish and also transformed meat products. From those twenty-four analysed samples, only one was positive to *Listeria monocytogenes*, although there was a positive one to *Listeria* spp.

In the case of surfaces, twenty samples were collected. With 25% presented satisfactory results, 30% acceptable and 45% unsatisfactory.

Ten samples were collected for the microbiological analysis of hands of foodstuffs operators. The results were not satisfactory for all samples. In seven of eight samples verified the presence of Staphylococcus coagulase positive, a situation which in itself classifies the sample as unsatisfactory.

The effectiveness of five detergents was tested against five bacteria, using the disc diffusion method. Of these detergents only five of them (w4), the concentration 1:100, was not effective. The others detergents (w1, w2, w3 e w5) were effective in inhibiting bacteria.

Key Words: *Listeria monocytogenes*, disc diffusion method, operators, surfaces, hygiene

Índice

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Índice de Figuras.....	iv
Lista de anexos.....	iv
1. Introdução.....	1
2. Listeria monocytogenes.....	2
2.1 - Identificação.....	2
2.2 - Serotipos	2
2.3 - Características morfológicas e fisiológicas	2
2.4 - Características bioquímicas	3
2.5 - Listeriose	4
2.6 – Produtos ultracongelados e transformados de carne.....	9
3. Monitorização da higiene.....	10
3.1 - Tipo de sujidade.....	12
3.2 - As superfícies.....	12
3.3 - Água.....	13
3.4 - Métodos de higienização.....	13
3.5 - Detergentes e desinfetantes.....	14
3.6 - Higiene dos manipuladores.....	15
3.7 - Monitorização de um plano de higienização.....	16
4. Parte experimental.....	17
4.1 - Descrição do local de estágio	17
4.2 - Colheita das amostras	18
4.2.1 - Alimentos.....	18
4.2.2 - Superfícies e manipuladores.....	18
4.3 – Pesquisa de Listeria monocytogenes.....	19
4.3.1- Testes de confirmação.....	19
4.3.1.1 - Iluminação de Henry.....	19
4.3.1.2 - Teste de hemólise.....	20
4.3.1.3 – Teste de CAMP.....	20
4.3.1.4 –API-Listeria.....	21
4.4 – Análise a superfícies e manipuladores.....	21
4.5 – Avaliação da eficácia dos detergentes/desinfetantes.....	22
5. Resultados e discussão.....	23
5.1- Pesquisa de Listeria monocytogenes.....	23
5.2 – Superfícies e manipuladores.....	26
5.3 – Detergentes/desinfetantes.....	30
6. Conclusão.....	33
Referências Bibliográficas.....	34

Índice de Tabelas

Tabela 1: Reacções que identificam as diferentes espécies do género <i>Listeria</i>	4
Tabela 2: Surtos de listeriose humana associados ao consumo de alimentos.	5
Tabela 3: Factores responsáveis pela origem alimentar da listeriose.....	8
Tabela 4: Aconselhamento dietético para a prevenção de listeriose.....	9
Tabela 5: Ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em produtos de carne, peixe e produtos transformados de carne.....	10
Tabela 6: Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> em produtos ultracongelados de peixe (n=12) e de carne (n=6) e produtos transformados de carne (n=6).	24
Tabela 7: Resultados das análises microbiológicas efectuadas a superfícies.....	27
Tabela 8: Resultados das análises microbiológicas efectuadas às mãos dos manipuladores.	28
Tabela 9: Resultados obtidos nos testes de sensibilidade de 5 culturas bacterianas a 5 detergentes/desinfectantes usados nas indústrias alimentares.	31

Índice de Figuras

Figura 1: Incidência de listeriose em países da União Europeia.....	6
Fonte: McLauchlin (2008).....	6

Lista de anexos

Anexo I – Composição química dos meios de cultura usados neste trabalho

Anexo II – Figuras

Anexo III – Esquema dos procedimentos para a pesquisa de *Listeria monocytogenes*