

Presença de *Listeria monocytogenes* e contagem de *Pseudomonas* em superfícies de uma indústria de laticínios

Mafalda Patrício Solipa Filipe

Relatório de Estágio apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar, realizado sob a orientação científica da Doutora Cristina Maria Baptista Santos Pintado, Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia do Instituto Politécnico de Castelo Branco

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

Agradecimentos

A realização deste trabalho, não seria possível sem a contribuição de algumas pessoas às quais quero agradecer:

Aos meus pais e irmão por todo o amor, apoio, ajuda e incentivo, pois nunca teria conseguido chegar a esta etapa da minha vida sem vocês

À D. Adriana por me ter proporcionado o estágio na empresa, pela ajuda, disponibilidade e ensinamentos que me transmitiu

À Doutora Cristina Pintado, que me orientou, pela ajuda preciosa, acompanhamento e disponibilidade que me prestou sempre

Ao Doutor João Pedro Luz pela disponibilidade e ajuda que me prestou.

À Eng^a. Andreia pela amizade e conhecimentos que me transmitiu durante a realização do estágio

À Eng.^a Ana pela disponibilidade demonstrada e esclarecimentos que me prestou ao longo do estágio

Ao laboratório de Microbiologia da Escola Superior Agrária, pelas facilidades concedidas, em especial à Eng^a. Manuela Goulão por toda a ajuda, conhecimento e disponibilidade que me prestou sempre com grande simpatia

À Anica, Vera, Marília, Andreia Gomes e à Andreia Gonçalves pela amizade, companheirismo e ajuda ao longo deste percurso bem como aos amigos de sempre

A todos muito obrigado!

Palavras-chave: Higienização, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas*

Resumo

O presente trabalho visa avaliar se o plano de higienização de uma unidade produtora de queijos é corretamente aplicado.

Para tal realizou-se pesquisa de *Listeria monocytogenes* e contagem de *Pseudomonas*, microrganismos considerados problemáticos para a higiene alimentar.

Foram realizadas colheitas de amostras, através de zaragatoas, a 17 superfícies diferentes da zona de produção. Esta foi feita durante o mês de setembro, repartindo 5 amostras por 4 semanas. Na última colheita feita, foram repetidas amostras em que se evidenciou um maior número de contaminação.

Segundo os resultados obtidos, pode-se verificar que, no geral o nível de contaminação é reduzido, significando que cumprem minimamente o plano de higienização implementado na empresa.

Keywords: Sanitation, *Listeria monocytogenes* e *Pseudomonas*

Abstract

This study aims to evaluate if the hygiene plan of a cheese production unit is correctly applied.

Therefore a research was carried out for *Listeria monocytogenes* and counting of *Pseudomonas*, microorganisms considered problematic for food hygiene.

Samples were carried out through swabs to 17 different surfaces of the production area. This was done during the month of September, dividing 5 samples per 4 weeks. In the last harvest made, samples were repeated which showed a higher number of contaminations.

According to the results, it can be seen that in general the level of contamination is reduced, meaning that meet minimally the hygiene plan implemented in the company.

Índice Geral

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	viii
Lista de abreviaturas	ix
Anexos	x
I-Introdução.....	1
II. Revisão Bibliográfica.....	2
1. Contaminação microbiológica	2
2. Higienização	2
2.1. Detergentes e Desinfetantes	2
2.2. Planos de Higienização	3
3. <i>Listeria monocytogenes</i>	4
3.1. Morfologia	4
3.2. Crescimento	4
3.3. Listeriose.....	4
3.4. Fontes de contaminação	5
4. <i>Pseudomonas</i>	5
5. Importância da sua monitorização dos microrganismos através das análises microbiológicas.....	6
III- Material e Métodos	7
1. Métodos de amostragem	8
2. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	9
2.1. Meios de cultura	10
2.2. Testes para confirmação	12
2.3. Expressão de Resultados	13
3. Contagem de <i>Pseudomonas</i>	14
3.1. Diluentes	14
3.2. Meio completo para <i>Pseudomonas</i>	14
3.3. Prova da oxidase.....	14
3.4. Coloração de Gram.....	15
3.5. Triple Sugar Iron (TSI)	15
3.6. Procedimento	15
3.7. Expressão de resultados.....	17
4. Crioconservação	17
IV- Resultados e Discussão	17
1. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	17
2. Contagem de <i>Pseudomonas</i>	21
V - Considerações Finais.....	25

Índice de Figuras

Figura 1 - Procedimento para a pesquisa de <i>Listeria</i>	10
Figura 2- Resultado positivo e negativo no primeiro caldo de enriquecimento	11
Figura 3-Colônia de <i>Listeria</i> spp em meio Oxford	12
Figura 4-Presença de <i>Listeria</i> spp	12
Figura 5-Presença de <i>Listeria monocytogenes</i> (com halo) em meio ALOA	13
Figura 6-Teste CAMP realizado a <i>Listeria monocytogenes</i>	9
Figura 7-Esquema do procedimento para contagem de <i>Pseudomonas</i>	16
Figura 8-Resultado do teste API <i>Listeria</i>	20
Figura 9-Crescimento restrito à superfície do meio TSI	21
Figura 10- <i>Geotrichum</i>	22
Figura 11- <i>Penicillium</i>	24

Índice de Tabelas

Tabela 1- Superfícies analisadas.....	7
Tabela 2-Superfícies analisadas e resultado da pesquisa de <i>Listeria Monocytogenes</i> a 10-09-2012	18
Tabela 3- Superfícies analisadas e resultado da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> a 17-10-2012	18
Tabela 4-Superfícies analisadas e resultado da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	19
Tabela 5-Superfícies analisadas e resultado da pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	20
Tabela 6-Superfícies analisadas a 10-09-2012.....	21
Tabela 7-Contagem de <i>Pseudomonas</i> nas superfícies analisadas a 17-09-2012	22
Tabela 8-Contagem de <i>Pseudomonas</i> nas superfícies analisadas a 24-09-2012	23
Tabela 9-Contagem de <i>Pseudomonas</i> nas superfícies analisadas a 2-10-2012.....	24

Lista de abreviaturas

ALOA: Listeria according to Ottaviani and Agostini

Anexos

Anexo I: Plano de Higienização

Anexo II: Fluxograma de Fabrico

Anexo III: Simulador - Regime de exercício da Atividade Industrial

Anexo IV: Lista dos perfis numéricos do teste API *Listeria*

Anexo V: Procedimento de trabalho para a Crioconservação de microrganismos a -80°C

Anexo VI: Perfil numérico de *Listeria* pesquisada

Anexo VII: Contagem de *Pseudomonas* a 10-09-2012

Anexo VIII: Contagem de *Pseudomonas* a 17-09-2012

Anexo IX: Contagem de *Pseudomonas* a 24-09-2012

Anexo X: Contagem de *Pseudomonas* a 02-10-2012