



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**INCIDÊNCIA DE *Listeria monocytogenes*
EM LEITE CRÚ DE OVELHA**

Engenharia das Ciências Agrárias – Ramo Animal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Dora Sofia Marques Pereira



CASTELO BRANCO

2000

Índice

Agradecimentos

Resumo

Abstract

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Lista de anexos

I – Introdução.....	1
II – Revisão Bibliográfica.....	2
1 – Apontamento histórico.....	2
2 – Taxonomia.....	3
3 – Caracterização.....	4
3.1 – Morfologia.....	4
3.2 – Características culturais.....	5
3.3 – Características nutricionais.....	5
3.4 – Características bioquímicas.....	5
4 – Tipagem.....	7
4.1 – Serotipagem.....	7
4.2 – Fagotipagem.....	8
5 – Listeriose humana.....	9
5.1 – Surtos epidêmicos.....	9
5.2 – Incidência.....	12
5.3 – Susceptibilidade e resistência à doença.....	13
5.4 – Sintomatologia.....	15
6 – Patogenicidade.....	17
7 – Listeriose nos animais.....	17
8 – Mecanismos de transmissão.....	18
9 – Controlo e prevenção.....	19
9.1 – Prevenção nas explorações e no leite.....	20

III – Material e Métodos.....	24
1 – Colheita de amostras.....	24
2 – Meios de cultura, reagentes e culturas microbiológicas..	25
2.1 – Caldos de enriquecimento.....	25
2.1.1 – <i>Modified Fraser Broth</i>	25
2.1.2 – <i>Buffered Listeria Enrichment Broth</i>	25
2.2 – Meios de isolamento.....	26
2.2.1 – <i>Gelose de Oxford</i>	26
2.2.2 – <i>Gelose de Palcam</i>	27
2.3 – Agar de triptona com extracto de levedura (<i>TSYEA</i>).....	28
2.4 – Gelose de sangue.....	28
2.5 – Meio para o teste de <i>CAMP</i>	29
2.6 – Culturas microbiológicas.....	29
2.7 – Sistema de identificação miniaturizado.....	30
2.8 – Meio <i>RAPID' L. mono</i>	30
3 – Metodologia.....	31
3.1 – Preparação das amostras.....	32
3.2 – Enriquecimento e isolamento.....	32
3.3 – Identificação.....	34
3.3.1 – <i>Iluminação de Henry</i>	34
3.3.2 – <i>Reacção de hemólise</i>	34
3.3.3 – <i>Teste de CAMP</i>	35
3.3.4 – <i>Identificação com o API-Listeria e com o RAPID L'</i>	
<i>mono</i>	36
3.4 – Confirmação definitiva. Serotipagem.....	38
IV – Resultados e Discussão.....	39
1 – Incidência de <i>Listeria monocytogenes</i> em leite cru de	
ovelha.....	39
2 – Prolongamento do período de enriquecimento.....	42

3 – Comparação das 24 horas com os 3 dias.....	43
4 – Comparação entre os meios de isolamento gelose de Oxford e gelose de Palcam.....	44
V – Considerações Finais.....	46
Bibliografia consultada.....	48
Anexo	

Resumo

Com este trabalho pretendemos analisar a incidência de *Listeria* spp. em amostras de leite cru de ovelha que se destinavam à produção de queijo de Castelo Branco.

Neste sentido, durante um período de 3 meses (de Março a Junho de 2000) foram recolhidas 78 amostras de leite cru de ovelha, provenientes de 30 produtores da região da Beira Baixa.

Todas as amostras foram analisadas tendo em vista o conhecimento do melhor período de enriquecimento e do melhor meio selectivo de isolamento, aquando da aplicação da metodologia preconizada na norma NF EN ISSO 11290-1 (1997).

Foram testados os períodos mencionados na norma acima referida (24 horas e 3 dias) e ainda os períodos de enriquecimento 2 dias e 7 dias. Todas as amostras foram semeadas em gelose de Oxford e em gelose de Palcam.

Os resultados encontrados mostram que 9,0% (7 / 78) das amostras foram positivas na pesquisa de *Listeria*: 5 (6,4%) amostras apresentaram *L. monocytogenes*, 1 amostra (1,3%) apresentou *L. monocytogenes* e *L. innocua* e 1 amostra (1,3%) *L. innocua*.

No que diz respeito aos períodos de enriquecimento, o prolongamento de 2 para 7 dias mostrou ser vantajoso, uma vez que todas as amostras positivas aos 2 dias também o foram aos 7 dias. O meio de Oxford mostrou ser mais indicado que o meio Palcam para o isolamento de bactérias do género *Listeria* a partir de amostras de leite cru de ovelha.