

OCORRÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* EM ABATEDOURO-FRIGORIFICO DE SUÍNOS DA REGIÃO DOS CAMPOS GERAIS – PR

OCCURRENCE OF *Listeria monocytogenes* IN A SLAUGHTERHOUSE-FRIDGE OF PIGS IN THE REGION OF CAMPOS GERAIS – PR

MONTEIRO, Francieli Casanova¹, SAMULAR, Renata Louize², MONTANHINI, Maike Tais Maziero³, BITTENCOURT, Juliana Vitória Messias⁴

¹Pós-Graduação em Engenharia de Produção – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa PR. E-mail: fran_casanovam@hotmail.com

² Pós-Graduação em Engenharia de Produção – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa PR.. E-mail: renatasamulak@hotmail.com

³Pós- Graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal do Paraná (UFPR). E-mail: maikemaziero@yahoo.com.br

⁴Pós-Graduação em Engenharia de Produção – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Ponta Grossa PR. E-mail: juvitoria@hotmail.com

Resumo

Listeria monocytogenes é um micro-organismo que está vastamente propagado no ambiente. A contaminação por este patógeno pode ser considerada um problema de saúde pública pois se consumido por gestantes e idosos pode levar o indivíduo a óbito, e o mesmo tem a habilidade de sobreviver mesmo com a aplicação dos sanitizantes recomendados pela legislação vigente. Como alternativa à microbiologia convencional utilizada nas indústrias de alimentos, os métodos envolvendo biologia molecular vem se tornando cada vez mais utilizados, principalmente pelo fato destes apresentarem menor custo da análise, maior sensibilidade, especificidade e rapidez. Objetivou-se neste estudo analisar a ocorrência de *L. monocytogenes* em ambiente de abatedouro-frigorífico de suínos localizado na Região dos Campos Gerais – PR, através do método de PCR. A pesquisa foi realizada em um abatedouro-frigorífico de suínos e fábrica de embutidos que atua sob o serviço de inspeção do Paraná, para produtos de origem animal SIP/POA. A empresa localizada na região dos Campos Gerais, Paraná, possui capacidade de abate média diária de 400 suínos/dia e produção diária de embutidos correspondente a 1,5 toneladas. As amostras foram coletadas utilizando a técnica de esfregaço de superfície (Swab). 21 amostras coletadas no estabelecimento estudado, 3 tiveram respostas confirmativas para *L. monocytogenes*, representando 14% do total. Este estudo reforçou a importância do controle e monitoramento de *L. monocytogenes* no ambiente e equipamentos de matadouros de suínos.

Palavras-chave: *Listeria* sp., abate de suínos, PCR.

Abstract

Listeria monocytogenes is a microorganism that is widely spread in the environment. Contamination by this pathogen can be considered a public health problem because if consumed by pregnant women and the elderly may lead the subject to death, and even has the ability to survive even with the application of sanitizers recommended by current legislation. As an alternative to conventional microbiology used in food industries, methods involving molecular biology has become increasingly used, mainly because these provide lower cost analysis, greater sensitivity, specificity and rapidity. The objective of this study was to investigate the occurrence of *L. monocytogenes* in slaughter-swine slaughterhouse located in the region of Campos Gerais environment - PR, through the PCR method. The survey was conducted on a pig abattoir fridge and factory fitted which operates under the inspection service of Paraná, for products of animal origin SIP / POA. The company located in the Campos Gerais, Paraná, has average daily slaughter capacity of 400 pigs / day and daily production of 1.5 tonnes fitted. Samples were collected using the technique of surface swabs (Swab). 21 samples collected on the property studied, 3 had confirmatory responses to *L. monocytogenes*, representing 14% of the total. This study emphasized the importance of monitoring and control of *L. monocytogenes* in the environment and pig slaughterhouses equipment.

Key-words: *Listeria sp*, pig slaughtering, PCR.

1.Introdução

Listeria monocytogenes é um micro-organismo que está vastamente propagado no ambiente, podendo ser encontrada na vegetação, solo, alimentos, fezes humanas e de animais, efluente de esgoto e corpos de água (VÁZQUEZ-SALINAS et al., 2001; QUINN et al., 2005).

A contaminação por este patógeno pode ser considerada um problema de saúde pública, uma vez que a doença causada no homem inclui infecções severas, como septicemias, encefalite, meningite e aborto, com altas taxas de hospitalizações e mortes. Acomete principalmente pessoas idosas, recém-nascidos, gestantes e indivíduos imunocomprometidos (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007).

É capaz de se reproduzir dentro de uma ampla faixa de temperatura, que vai de 25 a 45°C. Ainda assim, desenvolve-se e multiplica-se em alimentos mantidos sob refrigeração, mesmo em câmaras frigoríficas (DYKES, 2003). Tem habilidade de tolerar repetidos congelamentos e descongelamentos sem sofrer alteração; apesar do seu pH ótimo estar entre 6 e 8, tolera condições entre 5,5 e 9,6. Na indústria da carne, embutidos e até mesmo de laticínios, este micro-organismo pode ser considerado um problema, já que sobrevive aos níveis de nitrato de sódio e de cloreto de sódio recomendados pela legislação vigente (120mg/kg de NaNO₃ e 3% de NaCl) (VARNAM, 1991; QUINN et al., 2005; FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Pisos e ralos são classificados como origem primária de *L. monocytogenes* nos locais de processamento, entretanto consegue-se encontrá-la em diversos aparelhos e locais como vedações, correias transportadoras, máquinas de fatiar, cortar e embalar, contentores, facas, mesas e paredes;

em muitos casos, pela dificuldade na higienização dessas partes ou equipamentos (VARNAM, 1991; MORETRO et.al., 2004). Apresenta grande habilidade de sobreviver mesmo com a aplicação dos sanitizantes recomendados pela legislação vigente, o que reforça a preocupação da indústria com este micro-organismo (VARNAM, 1991; QUINN et al., 2005; FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Roça (2004), afirma que a probabilidade de contaminação da carne durante o processo de abate é alta, sua intensidade depende da eficiência das medidas higiênicas adotadas. O autor citado também evidencia a necessidade prevenir a contaminação cruzada através da realização adequada das operações unitárias, praticando procedimentos corretos e padronizados, adotando boas práticas de higiene e monitorando minuciosamente todas as etapas da cadeia produtiva.

Como alternativa à microbiologia convencional utilizada nas indústrias de alimentos, os métodos envolvendo biologia molecular vem se tornando cada vez mais utilizados, principalmente pelo fato destes apresentarem menor custo da análise, maior sensibilidade, especificidade e rapidez (MALDONADO, 2008). Vários métodos envolvendo genes estão sendo utilizados com êxito na tipagem molecular de *L. monocytogenes* (PARISI et al., 2009; DESTRO et al., 2000). Chen et al. (2006) constataram que o ingresso de técnicas moleculares de subtipagem modificou muito o âmbito das análises microbiológicas e proporcionou o entendimento da estrutura da população de *L. monocytogenes* e o progresso de contágio deste micro-organismo. De acordo com Corcoran et al. (2006) este ingresso tende a ser benéfico na averiguação de ocorrências de surtos de listeriose.

Considerando os aspectos abordados, objetivou-se neste estudo analisar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em ambiente de abatedouro-frigorífico de suínos localizado na Região dos Campos Gerais – PR, através do método de PCR.

2. Materiais e métodos

A pesquisa foi realizada em um abatedouro-frigorífico de suínos e fábrica de embutidos que atua sob o serviço de inspeção do Paraná, para produtos de origem animal SIP/POA. A empresa localizada na região dos Campos Gerais, Paraná, possui capacidade de abate média diária de 400 suínos/dia e produção diária de embutidos correspondente a 1,5 toneladas.

A amostragem ocorreu durante o primeiro turno de abate e os pontos escolhidos, tiveram como base o estudo de Schittler (2005), com adaptações quando necessárias. A Figura 1 mostra o fluxograma do sistema de produção para o abate de suínos e com locais mais susceptíveis à contaminação. Os pontos analisados assim como as áreas amostradas, foram codificadas através de números de 1 até 21, seguindo a sequência apontada no fluxograma.

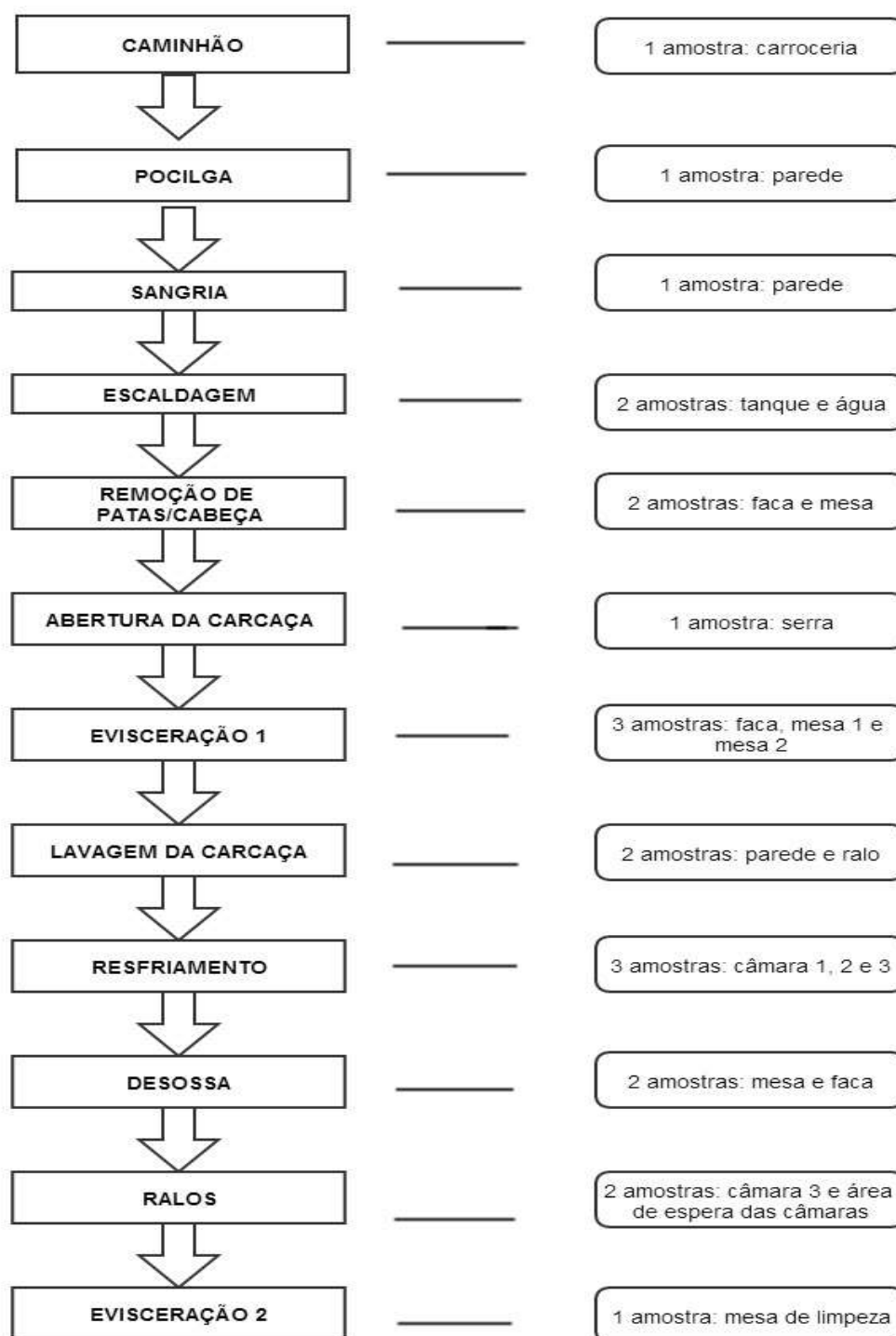


Figura 1: Sistema de abate de suínos e locais amostrados.

Fonte: Autoria Própria

As amostras foram coletadas utilizando a técnica de esfregação de superfície (Swab), que consiste na fricção de um cotonete estéril sobre a superfície a ser analisada, no interior de um molde estéril com área de 25 cm², revertendo-se a direção entre as sucessivas passagens (ABNT, 1998;

SILVA et al., 2001). Os *swabs* contendo as amostras foram resuspenso em 9mL de caldo BHI e mantidas sob refrigeração até o seu processamento. Após coletadas, as amostras foram levadas sob refrigeração para o Laboratório de Microbiologia da UTFPR – Campus Ponta Grossa, onde permaneceram em incubação por 24h sob temperatura de 37°C. Depois de incubadas seguiram para o Laboratório de Bioengenharia da UTFPR – Campus Ponta Grossa para realização dos testes de PCR.

A amostra de água foi coletada em frasco estéril e levado, sob refrigeração, para posterior análise de PCR no Laboratório de Bioengenharia do mesmo Campus.

Extração de Dna

Para o procedimento de extração de DNA, seguiu-se o protocolo utilizado por Peres (2007), utilizando o método de Lise Térmica, sendo que o mesmo sofreu adaptações. Transferiu-se 2 ml de uma cultura de 18 horas em caldo BHI para um microtubo estéril. Após centrifugação a 5.000 rpm durante 4 minutos, o sobrenadante foi desprezado, o pellet foi lavado três vezes com 500 µl de tampão TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7,8) e submetido a uma centrifugação por dois minutos a 5.000 rpm. O pellet foi suspenso novamente em 100 µl de TE e mantido no banho seco, com temperatura de 98° por 10 minutos. Em seguida foi feita centrifugação a 12.000 g durante 30 segundos e o sobrenadante foi estocado a -20°C para posterior utilização.

Reação da PCR

Para a reação de PCR, seguiu-se o modelo descrito por Lange et. Al. (2005), e sofreu adaptações devido a marcas de reagentes e também equipamentos. A reação denominada “mix”, continha 1 µl de cada primer (10 µM), 5 µl de tampão de PCR 10 X, 1,5 µl de MgCl₂ (50mM), 1 µl da mistura de nucleotídeos (10 mM), 0,2 U de Taq polimerase, 3ul de DNA bacteriando e água Milli-Q para completar um volume de 25 µl. As condições de amplificação foram: 5 minutos a 94°C, 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos à temperatura de anelamento dos primers, que foi 50°C e 45 segundos a 72°C, e uma extensão final de 5 minutos a 72°C, como descrito por Aznar (2003). Após realizado a PCR, as amostras foram submetidas a Nested PCR, visando a exclusão de resultados falso-positivos, conforme estudo de Samulak(2013). Como controle positivo da reação, utilizou-se DNA extraído da amostra de *L. monocytogenes* ATCC 19117, e como controle negativo, água Milli-Q esterilizada. Os primers utilizados na reação são CCTAAGACGCCAATCGAA e AAGCGCTTGCAACTGCTC, referentes ao gene *hlyA*, amplificando 702pb, segundo referencia de Border et.al.(1990).

Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose, aproximadamente uma hora utilizando-se 70 volts. O gel de agarose foi submerso em solução de brometo de etídio durante 15 minutos e fotografado solução de brometo de etídio na concentração de 0,5 µg/mL, por 10 minutos e fotodocumentados em transiluminador ultravioleta utilizando software LpiX Image para a visualização das bandas. Utilizou-se marcador de peso molecular de 100 pb para estimativa do tamanho dos produtos de PCR. Ao final da análise, constatando-se um produto de PCR que apresente 700pb, poderá ser confirmada a presença de *L. monocytogenes*.

3.Resultados

Os resultados obtidos foram tabelados, visando uma maior compreensão e visualização do local exato da contaminação, conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Resultados demonstrando presença de *L. monocytogenes* em ambiente produtivo de Abatedouro-Frigorifico através de técnica de PCR

LOCAL AMOSTRADO	NUMERAÇÃO	PRESENÇA DE <i>L.monocytogenes</i>
Carroceria do caminhão	1	-
Paredes(Pocilga)	2	-
Parede (Sangria)	3	-
Água (Tanque de escaldagem)	4	-
Parede (tanque de escaldagem)	5	-
Mesa (Remoção das patas e cabeças)	6	-
Faca (Remoção das patas e cabeças)	7	-
Serra (Abertura da carcaça)	8	-
Faca(Evisceração 1)	9	-
Mesa 1 (Evisceração 1)	10	-
Mesa 2 (Evisceração 1)	11	-
Parede (Lavagem da carcaça)	12	-
Ralo (Lavagem da carcaça)	13	-
Parede (Câmara de Resfriamento 1)	14	-
Parede (Câmara de Resfriamento 2)	15	-
Parede (Câmara de Resfriamento 3)	16	-
Mesa (Desossa)	17	-
Faca (Desossa)	18	-
Ralo (Câmara de Resfriamento 3)	19	+
Ralo (Área de espera das Câmaras de Resfriamento)	20	+
Mesa (Evisceração 2)	21	+

Fonte: Autoria Própria

Como demonstrado na tabela anterior, das 21 amostras coletadas no estabelecimento estudado, três tiveram respostas confirmativas para *Listeria monocytogenes*, representando 14% do total, sendo uma da mesa de evisceração e duas isoladas de ralos do ambiente frigorífico.

Esses resultados sugerem que a presença de *L monocytogenes* no ambiente industrial pode levar a contaminação de produtos em processamento. De qualquer forma, a higienização rigorosa

do ambiente de abatedouros-frigoríficos deve fazer parte de medidas de controle para prevenir este micro-organismo, visando evitar os resultados positivos encontrados nesta pesquisa (NALÉRIO et. al. 2009).

Alguns patógenos, como é o caso desta em estudo, podem fixar-se no ambiente da planta de processamento e encontrar nichos onde podem sobreviver por longos períodos de tempo (ZANQUETTA et.al. 2013). Uma das hipóteses para a presença do micro-organismo nesta planta em questão, é a formação de aerossóis produzidos durante a etapa de limpeza/desinfecção, esta fase pode estar sendo realizada de forma inadequada ou ineficiente.

Caselani (2013), analisou 411 amostras de plantas processadoras de carne de frango e de carne de suínos, sendo que 62 foram positivas para *L. monocytogenes*. Essa detecção se deu durante o processamento e após a higienização, e concluíram que a presença de resíduos orgânicos, pH neutro, baixas temperaturas e alta umidade favorecem à contaminação por este micro-organismo. Este dado pode explicar os resultados confirmativos desta pesquisa, pois esta é uma condição rotineira nos setores de processamento do abatedouro, devido à presença de resíduos orgânicos, pedaços de gorduras e sangue, bem como a baixa temperatura do ambiente.

Apesar da Circular no 354/2004 do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) não estabelecer limites para as estimativas de *Listeria sp.* e *L. monocytogenes*, de acordo com a legislação, resultados positivos frequentes (mais de dois) em amostras ambientais para *L. monocytogenes*, indicam a necessidade de realização de testes no produto final para avaliar a inocuidade do mesmo (BRASIL, 2004).

Resultados positivos frequentes em amostras ambientais para *L. monocytogenes*, indicam a necessidade de realização de testes no produto final para avaliar a inocuidade do mesmo. Mesmo nos casos em que os índices não é extremamente alto, como os encontrados neste trabalho, são importantes para avaliar os programas de qualidade do local de abate e processamento, buscando a ausência de contaminação do produto final.

Von Laer (2004) ao analisar amostras coletadas em uma planta de processamento de linguiça mista frescal, localizada na cidade de Pelotas/RS, Brasil, detectou a presença de *L. monocytogenes* em 21% (4) e 20,8% (5) das 19 amostras de ambientes e 24 de equipamentos, respectivamente. Esse resultado em conjunto com o obtido neste estudo, demonstra a fragilidade da produção de embutidos quanto a presença de *L. monocytogenes*, evidenciando como é comum sua presença nesses locais.

Silveira (2010) verifica ser o piso e os ralos os importantes focos de contaminação para o produto final, uma vez que todas as amostras de piso e ralos coletadas apresentaram contaminação por *L. monocytogenes*, assemelhando-se aos resultados encontrados neste trabalho. A mesma autora

cita em seus estudos que todas as amostras de ralo apresentaram colônias típicas de *Listeria* sp, evidenciando também a questão higiene como uma das principais causas de presença do patógeno no ambiente de processamento, mesmo em se tratando de pisos e ralos.

Suínos carregam a bactéria no trato gastrointestinal, como pode ser observado em estudos que amostraram fezes nas paredes do local de abate e *swabs* peri-anais de animais ao abate. A partir desses animais carreadores, as carcaças seriam contaminadas pelo extravasamento do conteúdo intestinal na linha de processamento (THEVENOT *et al.*, 2006). Esta informação pode ser confirmada, já que os pontos onde houveram confirmação de *L. monocytogenes* possuíam contato com as fezes dos animais, principalmente na mesa de evisceração, onde é realizada a higiene das tripas para posterior embutimento.

Von Laer (2006), ao analisar, através da PCR, amostras coletadas em uma planta de processamento de linguiça mista frescal, localizada na cidade de Pelotas/RS, Brasil, detectou a presença de *L. monocytogenes* em 21% (4) e 20,8% (5) das 19 amostras de ambientes e 24 de equipamentos, respectivamente. Demonstrando mais uma vez, a importância das análises rápidas no ambiente produtivo, afim de se prevenir a contaminação de *L. monocytogenes* no processamento de produtos cárneos.

De acordo com Rodrigues et al. (2011), é possível observar que o diagnóstico molecular via amplificação de DNA (PCR) está em crescimento e conseqüentemente as inovações relacionadas serão notáveis nos próximos anos, com a valorização do limiar de detecção e tempo de análise, o que é considerado uma inovação tecnológica.

Vale reforçar que a indústria deve estar atenta a esta tendência, pois pode estar elevando a credibilidade e a vantagem competitiva da empresa, pois fatores como alta confiabilidade, sensibilidade, especificidade, tempo de análise, custos, entre outros, são aspectos relevantes associados à PCR.

Por mais que *L. monocytogenes* tenha sido encontrado em locais cotidianos para sua proliferação e que a incidência tenha sido baixa no estabelecimento estudado, observa-se uma evidente preocupação com o controle de qualidade e melhoria no processo de higiene do estabelecimento, pois o mesmo agora conta com serviços de auditoria e monitoramento das condições microbiológicas em todo o processo industrial, mantidos sob inspeção do SIP/POA.

4. Conclusão

Este trabalho reforçou a importância do controle e monitoramento de *L. monocytogenes* no ambiente e equipamentos no matadouro de suínos estudado, evidenciando, neste caso, que os ralos são importantes pontos de disseminação de *L. monocytogenes* dentro do ambiente frigorífico.

A mesa de evisceração também se mostrou como possível foco de contaminação cruzada por este micro-organismo, provavelmente por contaminação com fezes. Portanto, estes pontos devem receber atenção redobrada nos processos de higienização aplicados aplicado nesta planta processadora de carne suína.

Ressalta-se ainda, a técnica de PCR como uma alternativa de extrema eficiência para detecção de patógenos em linhas de processamento de alimentos, tornando as análises mais céleres e confiáveis.

5. Agradecimentos

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

6. Referências

ABNT- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Preparo da amostra para exame microbiológico**. Rio de Janeiro: ABNT, março, 1988.

AUTIO, T., SÄTERI, T., FREDRIKSSON-AHOMAA, M., RAHKIO, M., LUNDÉN, J., KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **Journal Food Protection**, v.63, n.10, p.1438-1442, 2000.

BARROS, M.A.F.; BELOTI, V.; HAGA, M.M.; CAVALETTI, L.; d'OVIDIO, L.; AMORIM, F.A.; NERO, L.A. *Listeria spp.*: ocorrência em equipamentos e ambientes de processamento de carne bovina. Semina: **Ciências Agrárias, Londrina**, v. 25, n.4, p. 341-348, 2004.

BERRANG, M.E.; MEINERSMANN, R.J.; FRANK, J.F.; SMITH, D.P.; ENZLINGER, L.L. Molecular characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from a poultry further processing facility and from fully cooked product. **Journal of Food protection**, v. 65, n°.10, p. 1574-1579, 2002.

BORDER, P.M.; HOWARD, J.J.; PLASTOW, G.S.; SIGGENS, K.W. Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**, v.11, p.158-162, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular no 354/2004/DCI/DIPOA. Departamento de inspeção de produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] União da República Federativa do Brasil**, Brasília – DF, 25 jun. 2004. p. 3, 8.

CASELANI, K. ; PRATA, L. F. ; BIZARI, P. A. ; PEREIRA, G. T. ; MARCHI, P. G. F.; PICINATO, M. A. C. . Ocorrência de *Listeria spp.* e de *Listeria monocytogenes*, em um matadouro-frigorífico de bovinos do Estado de São Paulo. **Bioscience Journal** (UFU. Impresso), v. 29, p. 956-961, 2013.

DYKES G.A: Physical and metabolic causes of sub-lethal damage in *listeria monocytogenes* after long-term chilled storage at 4°C. **Journal applied microbiology**, v.87. P. 915-922, 2003.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Micro-organismos patogênicos de importância em alimentos**. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 4, p. 33-82.

LANGE, C; PERES, ND; ARCURI, EF; *et al.* Identificação de *Listeria monocytogenes* pela reação em cadeia da polimerase. *Rev Inst Cândido Tostes*. 2005;(60):150-3.

MATOS A.V.R; NUNES, L.B.S.; VIANNA C. ; SPINA, T.L.B. ; ZUIM, C.V.; POSSEBON, F.S.; XAVIER, D.M.; FERRAZ, M.C.; PINTO, J.P.A.N. *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157, *Salmonella* spp. e micro-organismos indicadores em carcaças bovinas para exportação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.65 n.4, 2013.

MORETRO, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. **Biofilms**, v. 1, n. 2, p. 107- 121, 2004.

NALÉRIO, É.S.; ARAÚJO, M.R. de; MENDONÇA,K.S.; BASSANI, M.T.; SILVA W.P. da. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(3): 626-630, jul.-set. 2009

PERES, N. D. **Detecção de *Listeria monocytogenes* em leite: Sensibilidade e Especificidade da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**. 2007. 43f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Família enterobacteriaceae**. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 18, p. 115-130.

ROÇA, R. O. **Microbiologia da carne**. Unesp, Campus de Botucatu, 2004. Disponível em: <http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/tecarne.htm>. Acesso em: 23.nov. 2013.

SAMULAK,RENATA LOUIZE. **Monitoramento via pcr de salmonella spp. No processamento de carne suína**. 2013. 65 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2013.

SANTOS, A.; LOURENÇO, D.; FERREIRA, S.; PITA, N.; CABETE, A. **Ondas de ultra-sons**. Disponível em http://www.esac.pt/noronha/pgs/0910/trabalho_mod2/Ultra_sons_PGA_turma_2.pdf>. Acesso em 28 out. 2013.

SASAHARA, K. C.; ZOTTOLA, E. A. Biofilm formation by *Listeria monocytogenes* utilizes a primary colonizing microorganism in flowing systems. **Journal of food protection**, v. 56, n.112, p.1022-1028, 1993.

SCHITTLER, L. **Caracterização molecular e sorotipificação de *Listeria monocytogenes* e *Listeria innocua* isoladas em matadouro - frigorífico de suínos da região das Missões – RS**. 2005. 45f. Dissertação(Mestrado em Ciências), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2005.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**, 1º edição – São Paulo: Livraria Varela, 2001.

SILVEIRA, J.G. **Investigação de *Listeria sp.* e micro-organismos mesófilos totais em carcaças bovinas e em ambiente industrial de abatedouro**. 2010. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.

SWAMINATHAN, B; GERNER-SMIDT, P. Forum: The epidemiology of human listeriosis. **Microbiology and Infectiology**, v.9, p.1236-43, 2007.

TAKHISTOV, P.; GEORGE, B. Early events and pattern formation in *listeria monocytogenes* biofilmes. **Biofilms**, v.1, p.351-359, 2004.

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

VARNAM, A. H. **Foodborne pathogens**. St. Louis: mosby year book, 1991. 557 p.

VÁZQUEZ-SALINAS, C.; RODAS-SUÁREZ, O.; QUIÑONES-RAMÍREZ, E. I. Occurrence of listeria species in raw milk in farms on the outskirts of Mexico City. **Food microbiology**, v. 18, n. 2, p. 177-181, 2001.

VON LAER, A., **Mapeamento da contaminação por *Listeria monocytogenes* em uma planta de processamento de lingüiça mista frescal através de sorologia e PFGE**. Pelotas, 2004.79f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

Recebido: 14/09/2014

Aprovado: 20/12/2014