

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSO QUÍMICOS

ANNA PAULA ATHANAZIO TINARELI
LETICIA OLIVEIRA FRABETTI

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA CRUZADA POR
Listeria spp NA INDÚSTRIA DE SORVETE**

CAMPINAS/SP

2020

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSO QUÍMICOS

ANNA PAULA ATHANAZIO TINARELI
LETICIA OLIVEIRA FRABETTI

**CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA CRUZADA POR
Listeria spp NA INDÚSTRIA DE SORVETE**

Trabalho de graduação apresentado por Anna Paula Athanzio Tinareli e Leticia Oliveira Frabetti, como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação da Profa. Dra. Eliane Melo Brolazo.

CAMPINAS/SP

2020

FICHA CATALOGRÁFICA
CEETEPS - FATEC Campinas - Biblioteca

T587c

TINARELI, Anna Paula Athanzio

Contaminação microbiológica cruzada por *Listeria* spp na Industria de sorvete. Anna Paula Athanzio Tinareli e Leticia Oliveira Frabetti. Campinas, 2022.

40 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos – Faculdade de Tecnologia de Campinas.

Orientador: Prof. Dra. Eliane Melo Brolazo.

1. Listéria spp 2. *Listeria monocytogenes*. 3. Contaminação bacteriana em alimentos. 4. Contaminação cruzada. I. Autor. II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 664

Catlogação-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 22.2

RESUMO

A presença de contaminantes em alimentos sejam eles físicos, químicos ou biológicos são de extrema importância para a saúde do consumidor, portanto, é necessário que a indústria alimentícia siga normas de boas práticas de fabricação para que se tenha um produto inócuo. Neste trabalho avaliamos a contaminação microbiológica, em específico a *Listeria spp*, pois é uma bactéria que tem facilidade em sobreviver em alguns ambientes da indústria, podendo se multiplicar e permanecer viável no produto final. Dentro do gênero *Listeria* existem duas patogênicas, a *Listeria monocytogenes* que é patogêna aos seres humanos e *L. ivanovii*, para animais. Um alimento contaminado por *L. monocytogenes* é de grande preocupação, pois ao ser ingerido por pessoas imunodeprimidas, pode ocasionar infecção e até levar a óbito. Na indústria de sorvete a *L. monocytogenes* é bem comum, por ser um alimento ideal para sua sobrevivência, pois o produto utiliza leite que contém a proteína para sua alimentação, por ser produzido e armazenado em local refrigerado e por ter alta atividade de água. Com isso, tivemos como objetivo realizar a investigação de *Listeria ssp* em ralos e pisos das linhas da fábrica de sorvete, evidenciando assim uma possível contaminação. Para isso foram coletadas amostras microbiológicas, constatando uma transferência de microrganismo de uma área contaminada para outra não contaminada, através do compartilhamento de rodos e vassouras. Após resultados evidenciados com a presença de *Listeria*, nosso propósito foi a eliminação do mesmo, realizando a segregação dos utensílios de forma individual para cada área, evitando a transferência destes microrganismos.

Palavras chave: *Listéria spp*, *Listeria monocytogenes*, contaminação bacteriana em alimentos, contaminação cruzada

ABSTRACT

The presence of contaminants in food, whether physical, chemical or biological, is extremely important for the consumer's health, therefore, it is necessary for the food industry to follow norms of good manufacturing practices in order to have an innocuous product. In this work, we evaluated microbiological contamination, in particular *Listeria spp*, as it is a bacterium that is easy to survive in some industrial environments, and can multiply and remain viable in the final product. Within the genus *Listeria* there are two pathogens, *Listeria monocytogenes* which is pathogenic to humans and *L. ivanovii*, for animals. A food contaminated by *L. monocytogenes* is of great concern, because when eaten by immunosuppressed people, it can cause infection and even lead to death. In the ice cream industry, *L. monocytogenes* is very common, as it is an ideal food for survival, as the product uses milk that contains protein for its food, because it is produced and stored in a refrigerated place and because it has high water activity. With that, we aimed to carry out the investigation of *Listeria ssp* in drains and floors of the lines of the ice cream factory, thus showing possible contamination. For this, microbiological samples were collected, confirming a transfer of microorganism from a contaminated area to an uncontaminated area, through the sharing of squeegees and brooms. After results evidenced with the presence of *Listeria*, our purpose was to eliminate it, performing the segregation of utensils individually for each area, avoiding the transfer of these microorganisms.

Keywords: *Listeria spp*, *Listeria monocytogenes*, bacterial contamination in food, cross contamination

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma do processo de fabricação do sorvete	17
Figura 2 - Como inocular a amostra	22
Figura 3 - Placas para listéria em monitoramento ambiental (EL).....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das análises da primeira fase referentes a Linha 1	23
Tabela 2 - Resultados das análises da primeira fase referentes a Linha 2	25
Tabela 3 - Resultados das análises da primeira fase referente a Linha 3	26
Tabela 4 - Resultado das análises da segunda fase referente a Linha 1	28
Tabela 5 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 2	29
Tabela 6 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 3	30
Tabela 7 - Resultados das análises da segunda fase referentes a Linha 1	32
Tabela 8 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 2	33
Tabela 9 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 3	34

LISTA DE SÍMBOLOS

GMP	<i>Good Manufacturing Practices</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
TSYEA	Ágar de Soja Triptona de Extrato de Levedura
CAMP	Christie, Atkins e Munch-Petersen
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
5S	5 Sensos
BPF	Boas Práticas de Fabricação
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
PPHO	Procedimentos Padrão de Higiene Operacional
POP	Procedimento Operacionais Padronizados
CIP	Controle Integrado de Pragas
CEP	Controle Estatístico de Processo
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
AP	Análise de Perigos
PPC	Ponto Crítico de Controle
PC	Ponto de Controle

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. JUSTIFICATIVA	9
3. OBJETIVO GERAL	10
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
4.1. GENERO LISTERIA	11
4.2. A INFECÇÃO POR LISTERIA	12
4.3. OS BIOFILMES	13
4.4. QUALIDADE EM ALIMENTOS	14
4.5. SEGURANÇA EM ALIMENTOS	16
4.6. A PRODUÇÃO DO SORVETE	17
5. METODOLOGIA	19
5.1. PREPARO DE MATERIAIS/ MEIO DE CULTURA	19
5.2. COLETA	20
5.3. ANÁLISE	21
5.4. LEITURA	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

A ingestão de produtos contaminados é um dos grandes problemas de saúde pública em nível global, por isso é muito importante que a indústria alimentícia siga critérios rigorosos baseando-se em GMP (*Good Manufacturing Practices/Boas Práticas de Fabricação*) para manipulação dos alimentos e do ambiente em que são produzidos. Nas indústrias alimentícias existem vários tipos de microrganismos potencialmente patogênicos, um dos mais preocupantes é a *Listeria spp*, que pode se proliferar no ambiente de fabricação e muitas vezes até mesmo sobreviver durante todo processo, podendo assim chegar até o produto final (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al*, 2017).

Esse microrganismo pode chegar a indústria de alimentos através de matérias primas como leite em pó desnatado, soro de leite, suco de frutas contaminadas, águas utilizadas no processo e também pela má higienização de ralos e pisos, pois o mesmo tem capacidade de se multiplicar em várias superfícies, incluindo em aço inoxidável, podendo manter-se nestes locais por meses ou até anos (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al*, 2017).

A *Listeria monocytogenes* é muito comum na fabricação de sorvete por se tratar de um alimento que utiliza leite, matéria prima rica em proteína para sua alimentação (NEOPROSPECTA, 2018), por ser refrigerado e com alta atividade de água, embora a temperatura abaixo de zero impeça seu crescimento ela pode se multiplicar lentamente em temperaturas de refrigeração, sendo assim o ambiente deve ser controlado para que não ocorra sua proliferação. (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al*, 2017).

A *L. monocytogenes* também está relacionada à formação de biofilme nos equipamentos, contaminação no momento de lavagem de pisos, devido aos respingos da água, atingindo os equipamentos e contaminando o produto final. Por se tratar de um microrganismo patogênico, ao ser consumido por pessoas imunodeprimidas, idosos, crianças, recém-nascidos pode causar doenças graves podendo levar a óbito e no caso de gestantes pode ocasionar o aborto (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al*, 2017).

Outro fator que favorece o acesso do microrganismo ao alimento é a contaminação cruzada, sendo assim, uma área ou utensílio de limpeza contaminado, podem transferir o agente patogênico de uma área da planta de fabricação para outra, caso o utensílio seja compartilhado, facilitando assim sua propagação. (US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al*, 2017).

2. JUSTIFICATIVA

As empresas do segmento alimentício devem seguir um critério rigoroso quanto aos cuidados de higiene da operação, das áreas da fábrica, dos utensílios utilizados e até mesmo dos materiais de embalagem e matérias primas, desde os locais que são armazenados até as área de envase, pois com a movimentação de pessoas, materiais e compartilhamento de utensílios podem ocorrer a transferência de contaminantes, por isso é de grande importância que seja realizado o monitoramento microbiológico para a investigação da presença de microrganismos patogênicos. Um destes microrganismos muito encontrados, principalmente na indústria que utiliza como matéria prima o leite, é a *Listéria*, por isso tem-se a preocupação de se estudar esta bactéria, evitando assim sua contaminação cruzada na planta de fabricação.

3. OBJETIVO GERAL

Detectar a bactéria *Listeria spp* em ralos e pisos na área produtiva da indústria de sorvete.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar o monitoramento microbiológico em pisos e ralos de cada área da fábrica para detecção de *Listéria*.

Identificar pontos colonizados por *Listeria* e pontos não colonizados.

Identificar os pontos de risco de contaminação cruzada via utensílios compartilhados.

Confirmar ausência do microrganismo nos ralos e pisos após a implantação da segregação dos utensílios de limpeza.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. GENERO LISTERIA

O gênero *Listeria* compreende sete diferentes espécies, sendo elas *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*, *L. murray*. (RYSER; MARTH, 2007, p. 05). Duas destas espécies são consideradas patogênicas, sendo elas a *L. monocytogenes*, patógena aos seres humanos: e *L. ivanovii*, patógena principalmente a animais, como ovinos e bovinos (MONTEVILLE & MATTHEWS, 2008).

A *Listeria* são bastonetes, Gram-positivos, anaeróbios facultativos, não formadores de endósporos, móveis, capazes de crescer entre temperaturas de 0 a 42°C, ou seja, conseguem se multiplicar lentamente em temperaturas de refrigeração (FORSYTHE, 2010).

A *Listeria monocytogenes* é encontrada principalmente no solo, lodo, forragem, leite, águas e diversos alimentos processados (KHELEF *et al.*, 2006). Estudos sugerem que 1% a 10% dos humanos podem carregar no intestino a *L. monocytogenes*. Este microrganismo foi encontrado em pelo menos 37 espécies de mamífero (entre eles domésticos e selvagens), 17 espécies de pássaros e em algumas espécies de peixes e frutos do mar (Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2013).

Como um importante aspecto para a indústria alimentícia, principalmente para as de lácteos, cabe destacar que a *Listeria spp.* pode colonizar superfícies inertes, sendo capaz de formar biofilmes em áreas de processamento de alimentos (ROBERTS & WIEDMANN, 2003). Nas indústrias de lácteos a preocupação é ainda maior pois a ação dos desinfetantes é reduzida pelo leite e seu soro (BEST, KENNEDY & COATES, 1990).

L. monocytogenes é encontrada constantemente em indústrias de alimentos, esse ambiente é bastante úmido e rico em nutrientes, o que colabora para a sua proliferação (MONTEVILLE & MATTHEWS, 2008). Essa bactéria pode ser detectada em diversas áreas da planta de processamento, como pisos, ralos e equipamentos, e tem a habilidade de colonizar e se multiplicar em várias superfícies, incluindo o aço inoxidável, vidro, borracha e polipropileno (VAID, LINTON & MORGAN, 2010), podendo se manter presente por meses ou até anos (ZHAO, DOYLE & ZHAO, 2004).

Tal microrganismo consegue aderir a superfícies onde há resíduos de alimentos acumulados (GANDHI & CHIKINDAS, 2007), (POIMENIDOU *et al.*, 2009) formando

biofilmes, que apresentam resistência ao calor e a agentes antimicrobianos e biocidas (CLOETE, 2003).

Segundo a OMS, Organização Mundial da Saúde, a pasteurização é um processo seguro que diminui o número de células de *L. monocytogenes* no leite cru a níveis que não representam riscos significativos a saúde humana, mas se a contaminação ocorrer pós-processo a *L. monocytogenes* consegue crescer de forma satisfatória (ORAVCOVÁ *et al.*, 2008).

Listeria spp são produtoras de catalase e em placas de TSYEA, suas colônias são opacas e incolores, com bordas definidas. Logo, se as características morfológicas, fisiológicas e teste da catalase confirmarem o gênero *Listeria*, deve-se seguir com as provas seguintes para a confirmação de *L. monocytogenes*, realizar o teste da hemólise, os testes de utilização de Carboidratos (tais como xilose, ramnose e manitol) e o teste de CAMP, considerado por muitos como teste definitivo para a confirmação da bactéria (JAY, 2005).

Outro importante método utilizado para a identificação da espécie é o Kit API - *Listeria*® (BioMérieux), composto por dez testes bioquímicos, capaz de discriminar *L. monocytogenes* de *L. innocua*, é um teste bastante prático que fornece resultados de maneira rápida e eficaz (SWAMINATHAN, ROCOURT & BILLE, 1995).

4.2. A INFECÇÃO POR LISTERIA

A listeriose é uma doença grave que apresenta altas taxas de mortalidade (SWAMINATHAN & GERNER-SMIDT, 2007) e afeta principalmente idosos, recém-nascidos, gestantes e pessoas imunodeprimidas (FRECE *et al.*, 2010), (LIU, 2006), (VANEGAS *et al.*, 2009). Os principais tipos de infecção são meningite, encefalite, gastroenterite e em mulheres grávidas pode causar o aborto, parto prematuro ou ainda o nascimento da criança sem vida (FORSYTHE, 2010). Em mulheres grávidas e recém-nascidos a infecção pode ser tratada com antibióticos, mas em cerca de um terço dos casos tem-se o óbito (RAMASWAMY, 2007).

A maioria das infecções em humanos é transmitida por alimentos, principalmente queijos e leites contaminados (RAMASWAMY, 2007), mas a manifestação da doença depende principalmente das condições do hospedeiro. A quantidade de microrganismos que

precisa ser ingerida para que a doença se manifeste pode variar de 10^2 a 10^9 UFC (Unidades Formadoras de Colônias) (JEMMI & STEPHAN, 2006).

4.3. OS BIOFILMES

O biofilme é o resultado da formação e acumulação de vários processos de natureza física ou biológica (XAVIER *et al*, 2003). Pode ser definido como uma forma de existência microbiana espacial que pode se aderir a superfícies bióticas ou abióticas. Nos ambientes naturais 95% a 99% dos microrganismos existem na forma de biofilmes, eles são encontrados em substratos que possuam umidade suficiente para suportar o seu crescimento (OLIVEIRA, BRUGNETRA & PICCOLI, 2010).

Biofilmes são formados por quase todos os tipos de microrganismos, se estiverem em condições favoráveis. Na indústria de alimentos as bactérias são os microrganismos que tem o maior potencial para a sua formação, entre as espécies deteriorantes destacam-se: *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus* sp. e *Enterococcus faecium* e entre as bactérias patogênicas, encontram-se: *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *S. aureus* e *B. cereus* (OLIVEIRA, BRUGNETRA & PICCOLI, 2010).

Uma vez estabelecidos, os biofilmes microbianos funcionam como camada isolante e ocasionam um processo conhecido como corrosão microbiologicamente induzida, interferindo na transferência de calor entre superfícies e reduzindo a vida útil dos equipamentos. Esses biofilmes proporcionam consequências como maior gasto com a manutenção pela substituição de peças precocemente danificadas, bem como diminuição da qualidade dos produtos fabricados por esse equipamento (OLIVEIRA, BRUGNETRA & PICCOLI, 2010).

Em aspectos microbiológicos sabe-se que se não ocorrer a implementação de sistemas de controle de qualidade nas indústrias alimentícias e a correta higienização com sanitizantes dos equipamentos, microrganismos podem continuar viáveis nas superfícies e posteriormente contaminar alimentos processados nas linhas de produção. O acúmulo de resíduos e microrganismos nesses equipamentos contribuirão para o desenvolvimento dos biofilmes, essa adesão a superfície pode ocorrer através de microrganismos deteriorantes ou patogênicos, resultando em sérios problemas para a saúde pública (OLIVEIRA, BRUGNETRA & PICCOLI, 2010).

Para a remoção desses microrganismos causadores de biofilmes é importante a utilização de produtos sanitizantes, definidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), como formulações que têm em sua composição substâncias antimicrobianas que apresentam efeito letal sobre microrganismos não esporulados (BRASIL, 1988). Em estudo realizado com diferentes substâncias inibidoras (iodo, biguanida, compostos quaternários de amônio, ácido peracético e hipoclorito de sódio) foi constatado uma redução do número de células de *L. monocytogenes*, aderidas sobre superfícies de aço inoxidável após o tratamento com sanitizantes (CABEÇA *et al.*, 2006). A aplicação destes produtos é realizada com diluição adequada para matar os microrganismos, não oxidar o equipamento e após sua aplicação é realizado um enxague, para que assim não se tenha residual que contamine o produto, além deste enxague toda a massa envasada no início é descartada, garantindo assim um produto inócuo ao consumidor.

4.4. QUALIDADE EM ALIMENTOS

Qualidade em alimentos diz respeito a vários aspectos, desde a cor, paladar, compostos indesejáveis até a conformidade do produto ao consumidor, pois o produto deve ter ausência de defeitos e cumprir as características pelas quais foram criados. Alguns programas de qualidade são implementados na indústria de alimentos, para que assim se tenha um produto inócuo, sendo eles: 5 Sentidos (5S), Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), Procedimentos Operacionais Padronizados (POP), Controle Integrado de Pragas (CIP), Controle Estatístico do Processo (CEP), Organização Internacional para Padronização (ISO), Qualificação dos Fornecedores, Qualidade Assegurada, envolvendo também a Qualidade de Vida Ocupacional e Qualidade Ambiental, em busca da excelência dos produtos e serviços prestados, visando garantir a segurança dos clientes e superar suas expectativas e necessidades (SILVA & CORREIA, 2009).

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) ou do inglês *Good Manufacturing Practices* (GMP) são atos de higiene que devem ser adotadas pelas indústrias de alimentos e obedecidas pelos manipuladores desde a aquisição das matérias-primas, durante o processamento, até o consumidor (SILVA & CORREIA, 2009). O objetivo das BPF é evitar a ocorrência de doenças provocadas pelo consumo de alimentos contaminados (BRASIL, 2004). São procedimentos necessários, tendo como finalidade garantir a qualidade dos alimentos (BRASIL, 1997). São normas com a finalidade de atingir um determinado padrão de

identidade e qualidade de um produto, cuja efetividade deve ser analisada por inspeções (BRASIL, 1993).

4.5. SEGURANÇA EM ALIMENTOS

Ferramentas de gestão da qualidade, como 5S e de garantia da qualidade, como BPF, embora sejam consideradas genéricas são indispensáveis como pré-requisitos para a implementação do APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle), a ISO 9000 sendo uma ferramenta de controle de processo e gestão da qualidade, necessita de um complemento para a segurança sanitária, esse complemento é feito pelo sistema APPCC (RIBEIRO, 2006).

O sistema APPCC busca a satisfação exigida no critério segurança de alimentos, por ser um programa que visa a prevenção e por trabalhar junto com programas já utilizados, aproveita os investimentos feitos. A implementação do APPCC satisfaz a legislação nacional e internacional, dando segurança e abrindo portas para a exportação. Microrganismos altamente patogênicos podem ser veiculados por alimentos e bebidas e, o sistema APPCC, é a única ferramenta que trabalha no caminho da prevenção (RIBEIRO, 2006).

Da sigla APPCC, o AP (Análise de Perigos) é a peça-chave para todo o sistema. Os perigos à saúde do consumidor são classificados em três, os químicos, físicos e biológicos, variando quanto ao grau de severidade e riscos potenciais de manifestação em consumidores (RIBEIRO, 2006).

Os perigos químicos, geralmente os mais temidos pelos consumidores, tem como exemplo os defensivos agrícolas, antibióticos, micotoxinas, sanitizantes e uma grande quantidade de produtos que podem entrar em contato com alimentos (RIBEIRO, 2006).

Perigos físicos, o mais comumente identificado, incluem cacos de vidro, espículas de osso e fio de cabelo, pode causar somente injúrias ao cliente, mas também pode causar algo mais grave como a realização de intervenções cirúrgicas (RIBEIRO, 2006).

Quanto aos perigos biológicos, os mais sérios do ponto de vista da saúde pública, compreendem bactérias patogênicas e suas toxinas, vírus parasitas e príons, este risco representa a grande maioria das ocorrências totais ocasionadas, principalmente por bactérias (RIBEIRO, 2006).

O Ponto Crítico de Controle (PCC) é qualquer ponto, etapa ou procedimento no qual se aplicam medidas preventivas para manter um perigo identificado sob controle, com objetivo de eliminar, prevenir ou reduzir os riscos à saúde do consumidor (RIBEIRO, 2006).

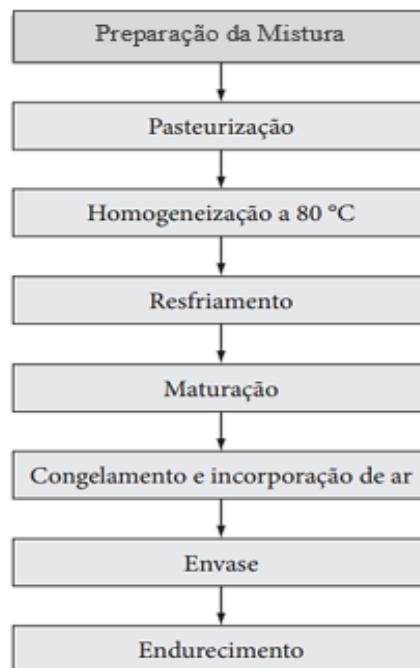
Ponto de Controle (PC) é qualquer ponto, etapa ou procedimento no qual fatores biológicos, químicos ou físicos podem ser controlados, prioritariamente por programas e procedimentos de pré-requisitos, como as Boas Práticas (CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA, 2001). Justifica-se o estabelecimento do PCC a partir da constatação do risco significativo da ocorrência de um certo perigo que provoque impacto à saúde pública (RIBEIRO, 2006).

4.6. A PRODUÇÃO DO SORVETE

O sorvete apesar de ser armazenado a baixas temperaturas é um ótimo meio para o desenvolvimento microbiano, devido ao seu elevado nível nutricional, seu pH próximo ao neutro (6-7) e seu longo período de armazenamento (ABRAHÃO, 2008). Estabelecimentos que processam leite e seus derivados que funcionam sobre regime de inspeção federal devem implementar programas de qualidade como APPCC para se adequar as normas (RIBEIRO, 2006).

A Figura 1 esquematiza um fluxograma das etapas do processo de fabricação utilizado na produção dos sorvetes (OLIVEIRA, 2008).

Figura 1- Fluxograma do processo de fabricação do sorvete



Fonte: OLIVEIRA – Caracterização reológica de sorvetes

Preparação da mistura: os ingredientes secos (açúcar, leite em pó desnatado, soro de leite, estabilizantes alginato de sódio e fosfato dissódico) e líquidos (água, gordura vegetal, açúcar líquido invertido, xarope de glicose, emulsificante mono e diglicerídeos de ácidos

graxos, aromatizantes e corantes urucum e cúrcuma) são adicionados no pasteurizador durante o processo de aquecimento, sob agitação contínua (OLIVEIRA, 2008).

Pasteurização: a mistura é pasteurizada a 80 °C por 25 segundos em trocador de calor a placas (OLIVEIRA, 2008).

Homogeneização: no processo de homogeneização a pressão utilizada varia conforme o tipo de sorvete, variando entre 75 kgf.cm⁻² a 100 kgf.cm⁻² (OLIVEIRA, 2008).

Maturação: a mistura resfriada é transferida para as tinas de maturação, onde permanece sob agitação lenta, a uma temperatura de 4 °C, por um tempo mínimo de 2 horas. De acordo com cada tipo de sorvete, é feita a adição de suco de fruta e/ou saborizante (OLIVEIRA, 2008).

Congelamento e incorporação de ar: A mistura maturada é batida e congelada em um processo contínuo, à temperatura de -8 °C. A incorporação de ar (*overrun*) do sorvete varia dependendo do tipo de sorvete. Nesta etapa, cerca de 50% da água é congelada (OLIVEIRA, 2008).

Envase: na saída da envasadora, o sorvete é acondicionado em suas devidas embalagens (OLIVEIRA, 2008).

Endurecimento: o sorvete envasado é levado para uma câmara fria, com temperatura de -22 °C, onde continua o seu processo de congelamento. Com o endurecimento, cerca de 90% da água é congelada (OLIVEIRA, 2008).

5. METODOLOGIA

A metodologia utilizada para detecção da *Listeria spp* foi o cultivo em 3M™ Petrifilm™ Placa para Listeria em Monitoramento Ambiental (EL) e a coleta foi realizada por coleta com swab microbiológico em área produtiva.

A Placa 3M™ Petrifilm™ para Listeria em Monitoramento Ambiental (EL) é um sistema de meio de cultura pronto para uso, que contém agentes seletivos, nutrientes, um agente gelificante solúvel em água fria e um indicador cromogênico que facilita a detecção das colônias de *Listeria*.

A presença do indicador *Listeria*, como *Listeria innocua* evidencia que as condições ambientais estão propícias para a ocorrência de *Listeria monocytogenes*. A Placa Petrifilm EL detecta a maioria das espécies de *Listeria* ambiental, como *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* e *Listeria welshimeri* (3M™ PETRIFILM™, 2020).

Nos casos em que são esperados resíduos de sanitizantes, deve ser utilizada solução tampão neutralizante, como por exemplo, o Caldo Lethen para a coleta da amostra, para evitar qualquer efeito inibitório dos sanitizantes sobre o crescimento de microrganismos. Não deve ser adicionado o neutralizador ao diluente quando nenhum desinfetante for esperado (ISO 18593, 2018).

Devido as condições do ambiente ou ao processo de sanitizações durante as limpezas nas áreas fabril a *Listeria* pode ficar estressada e ou injuriada, ou seja, ela pode ser lesada por estes agentes inibindo seu crescimento momentâneo, por isso deve-se adicionar ao diluente neutralizante, após a coleta, a água peptonada tamponada para a recuperação destas células (ISSO 18593, 2018).

5.1. PREPARO DE MATERIAIS/ MEIO DE CULTURA

Foi utilizado caldo Lethen para hidratação do *swab*, água peptonada tamponada em conjunto com a Placa Petrifilm EL para recuperar a *Listeria* estressada, tubo de ensaio estéril, pipeta graduada estéril de 1 mL ou pipetador automático para a distribuição do caldo Lethen nos tubos.

O Caldo Lethen foi preparado conforme as instruções da embalagem. Após esterilização foi realizado a medição do pH que deve estar entre (6.8 a 7.2).

Depois de frio deve-se distribuir em tubos estéreis 1mL, toda esta etapa deve ser feita de forma asséptica, dentro do fluxo laminar, para evitar contaminação cruzada.

A água peptonada tamponada, foi preparada conforme especificações da embalagem. Após esterilização realizar a medição do pH que deve estar entre (6.8 a 7.2).

5.2. COLETA

Antes de iniciar a coleta, foi preparado uma bandeja contendo os tubos em grades, hastes para *swab*, luva nitrílica, álcool 70% e caneta retroprojeter para identificação dos tubos.

Os pontos de coletas foram definidos de acordo com o nível de risco de cada área, já pré-definidos pela empresa, por conta de sigilo não será mencionado o nome da mesma, existem 3 tipos de risco: Alto, superfícies de contato direto com o alimento (ex: locais que estejam mais próximo a envasadora, após a pasteurização); Médio, equipamentos de produção e Baixo, áreas fora do envase (ex: área de processo e armazém). A partir destas classificações definimos realizar a amostragem em risco Alto.

A coleta foi realizada nos ralos e pisos próximos a envasadora, pelo fato do produto já estar pasteurizado e por estar mais vulnerável a contaminação, já que o mesmo está aberto no momento da extrusão, por mais que o equipamento seja parcialmente fechado, pode-se ter contaminação cruzada por respingos no momento da limpeza do piso e ralos. Foi definido os seguintes pontos das linhas de produção, sendo linha 1, 2 e 3.

- I. Ralo: próximo ao bocal, mesa de documentos, tanques de inclusão, batedeiras e misturador.
- II. Piso: próximo ao bocal, mesa de documentos, tanques de inclusão, batedeiras e misturador.

Estes pontos foram monitorados por 1 mês, sendo a primeira fase. Evidenciando a presença do microrganismo, foram trocados e identificados os rodos e vassouras e após foi realizado um novo monitoramento nos mesmos pontos por 2 meses consecutivos.

No ponto de coleta retirar o *swab* estéril da embalagem, caso o ponto esteja seco, deve-se umedecer no tubo contendo o diluente, para que assim tenha um melhor contato no momento da esfrega. Pressionar a ponta do *swab* na superfície a ser coletada e realizar a

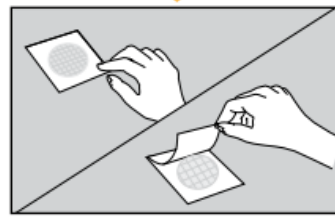
esfrega girando o cotonete entre o polegar e indicador, para superfícies planas a amostragem deve ser realizada horizontal e vertical, sendo 10 vezes em cada direção. Após a coleta verificar se o tubo está fechado corretamente, para que o cotonete fique úmido até o momento da análise. As amostras devem preferencialmente ser analisadas dentro de 24 horas após a amostragem (ISO 18593, 2018).

5.3. ANÁLISE

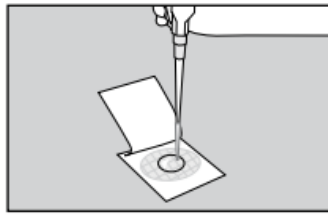
Após a coleta, os tubos foram levados ao laboratório e adicionou-se 2mL de água peptonada ao tubo contendo o Letheen, em seguida foi realizada a agitação vigorosamente do tubo durante 1 minuto e aguardou em repouso no mínimo 01 h e no máximo 01 h e 30 min., em temperatura ambiente, 20°C à 30°C, após este período agitou-se vigorosamente de novo, esta etapa é necessária para recuperação da *Listeria* injuriada, não deixando ultrapassar este tempo para evitar resultados falso positivo ou negativo, toda esta etapa deve ser feita de forma asséptica, dentro do fluxo laminar, para evitar contaminação cruzada.

Após o tempo em repouso agitou-se novamente o tubo, pegou-se a placa de petrifilm 3M para *Listeria* Ambiental (EL), a identificou com o número da amostra e verteu-se toda a quantidade do tubo na placa, total de 3mL, e foi incubada em estufa a 35°C por 28 h (como exemplificado na Figura 2 - Como inocular a amostra), após o tempo de incubação caso tenha dúvida no crescimento da colônia que será vermelho-violeta intenso, deixar por mais 02 h incubada, totalizando 30 h de incubação. Após o tempo máximo de 30 h de incubação, as colônias que não apresentarem coloração vermelho-violeta intenso, não devem ser interpretadas como *Listeria*.

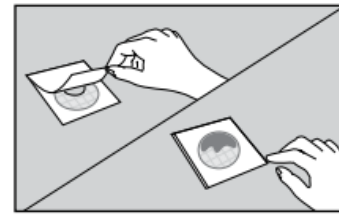
Figura 2 - Como inocular a amostra



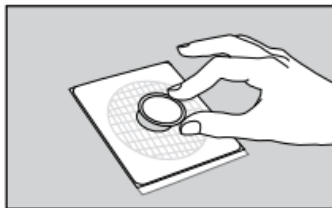
1 Coloque a Placa Petrifilm EL em uma superfície plana. Levante o filme superior.



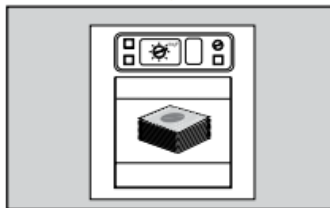
2 Com a 3M™ Pipeta Eletrônica ou uma pipeta equivalente, posicionada perpendicularmente à Placa Petrifilm EL, coloque 3 ml da amostra no centro do filme inferior.



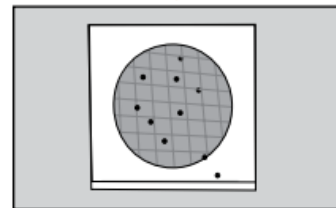
3 Desça o filme superior sobre a amostra.



4 **Delicadamente**, coloque o difusor plástico no filme superior sobre o inóculo. **Não pressione**, gire ou arraste o difusor. Retire o difusor. Aguarde, ao menos, **10 minutos** para permitir a formação do gel. Nota: se o inóculo espalhar sozinho, o difusor não é necessário.



5 Incube as placas com o lado transparente para cima, em pilhas de até 10 placas, por **28h ± 2h** a 35°C ± 1°C ou 37°C ± 1°C. **Não ultrapasse 30 horas. A incubação, além do tempo recomendado, pode dar resultados ambíguos.**



6 As Placas Petrifilm EL podem ser contadas ou interpretadas usando um contador de colônias comum ou qualquer outra fonte de amplificação. Não conte as colônias na espuma porque elas estão fora da influência seletiva do meio.

Fonte: 3M™ PETRIFILM™, 2020

5.4. LEITURA

Realizar a leitura e reportar como ausência, caso não tenha nenhum crescimento ou presença, caso tenha crescimento, independentemente da quantidade de colônias crescidas, pois neste caso trata-se de um método qualitativo.

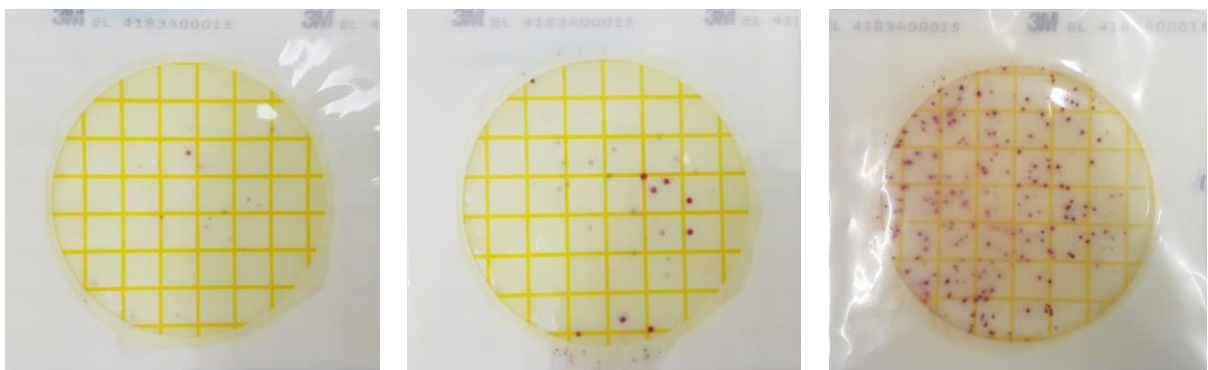
Ao término da leitura do resultado a placa foi descartada em saco de autoclave para posterior autoclavagem para eliminação do microrganismo.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise e interpretação das placas de petrifilm EL que foram incubadas, foi possível a confirmação da presença de *Listeria* spp nas linhas de produção investigadas.

A Figura 3 apresenta 3 das placas que foram analisadas, como o nosso trabalho tem o intuito qualitativo e não quantitativo, independentemente da quantidade apresentada na placa interpretamos como presença de *Listeria* spp.

Figura 3 - Placas para listéria em monitoramento ambiental (EL)



Fonte: Próprio autor

Para todas as amostras coletadas foram realizadas as análises de swab de *Listeria* spp e todas as análises foram realizadas as 14h dos respectivos dias. A Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3 apresentam os resultados das análises realizadas em maio (sendo a 1ª fase), nas linhas 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 1- Resultados das análises da primeira fase referentes a Linha 1

Maio – 1ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria</i> spp
09/05/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
09/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
09/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Ralo próximo as batedeiras	Presente
09/05/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente

Maio – 1ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
09/05/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
09/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Piso próximo as bateadeiras	Presente
09/05/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
23/05/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
23/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
23/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
23/05/20	Ralo próximo as bateadeiras	Presente
23/05/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
23/05/20	Piso próximo ao bocal	Presente
23/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
23/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
23/05/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
23/05/20	Piso próximo ao misturador	Presente

Fonte: Próprio autor

Tabela 2 - Resultados das análises da primeira fase referentes a Linha 2

Maio – 1ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
09/05/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
09/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
09/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Ralo próximo as batedeiras	Presente
09/05/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao bocal	Presente
09/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Piso próximo as batedeiras	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
23/05/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
23/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
23/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
23/05/20	Ralo próximo as batedeiras	Ausente
23/05/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
23/05/20	Piso próximo ao bocal	Presente
23/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
23/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente

Maio – 1ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
23/05/20	Piso próximo as bateadeiras	Presente
23/05/20	Piso próximo ao misturador	Ausente

Fonte: Próprio autor

Tabela 3 - Resultados das análises da primeira fase referente a Linha 3

Maio – 1ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
09/05/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
09/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
09/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Ralo próximo as bateadeiras	Presente
09/05/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
09/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
09/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
09/05/20	Piso próximo as bateadeiras	Presente
09/05/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
23/05/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
23/05/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
23/05/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente

Maio – 1ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
23/05/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
23/05/20	Ralo próximo ao misturador	Presente
23/05/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
23/05/20	Piso próximo a mesa de documento	Presente
23/05/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
23/05/20	Piso próximo as bateadeiras	Presente
23/05/20	Piso próximo ao misturador	Presente

Fonte: Próprio autor

Na coleta da primeira fase notamos que houve presença de *Listeria spp* em todas as linhas de produção e na maioria dos pontos de coleta, tanto no dia 09 quanto no dia 23, é evidente também o aumento das sinalizações de uma semana para outra, pois onde não havia apresentado contaminação passou a apresentar. Devido a essa presença de *Listeria spp* os utensílios de limpeza como rodos, vassouras e baldes, foram trocados e identificados para a utilização única em cada linha.

Após o período de um mês de implementação da segregação dos utensílios, novas análises foram realizadas seguindo os mesmos padrões das análises anteriores. A Tabela 4, Tabela 5 e Tabela 6 apresentam os resultados da primeira parte da segunda fase (análises realizadas em julho) das linhas 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 4 - Resultado das análises da segunda fase referente a Linha 1

Julho – 2ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
04/07/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
04/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
04/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
04/07/20	Ralo próximo as batedeiras	Presente
04/07/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
04/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
04/07/20	Piso próximo as batedeiras	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao misturador	Presente
18/07/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
18/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
18/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
18/07/20	Ralo próximo as batedeiras	Ausente
18/07/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
18/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente

Julho – 2ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
18/07/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao misturador	Presente

Fonte: Próprio autor

Tabela 5 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 2

Julho – 2ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
04/07/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
04/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
04/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
04/07/20	Ralo próximo as bateadeiras	Presente
04/07/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
04/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Presente
04/07/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
18/07/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
18/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
18/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente

Julho – 2ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
18/07/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
18/07/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
18/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
18/07/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao misturador	Presente

Fonte: Próprio autor

Tabela 6 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 3

Julho – 2ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
04/07/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
04/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
04/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
04/07/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
04/07/20	Ralo próximo ao misturador	Presente
04/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
04/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
04/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente

Julho – 2ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
04/07/20	Piso próximo as bateadeiras	Presente
04/07/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
18/07/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
18/07/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
18/07/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
18/07/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
18/07/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
18/07/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
18/07/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
18/07/20	Piso próximo ao misturador	Ausente

Fonte: Próprio autor

Seguindo a metodologia estabelecida a Tabela 7, Tabela 8 e Tabela 9 apresentam os resultados das análises realizadas em agosto (andamento da segunda fase) nas linhas 1, 2 e 3 respectivamente.

Tabela 7 - Resultados das análises da segunda fase referentes a Linha 1

Agosto – 2ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
01/08/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
01/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
01/08/20	Ralo próximo as batedeiras	Presente
01/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
01/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
01/08/20	Piso próximo as batedeiras	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
15/08/20	Ralo próximo as batedeiras	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente

Agosto – 2ª Fase (Linha 1)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
15/08/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente

Fonte: Próprio autor

Tabela 8 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 2

Agosto – 2ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
01/08/20	Ralo próximo ao bocal	Presente
01/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente
01/08/20	Ralo próximo as bateadeiras	Presente
01/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
01/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
01/08/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Presente
15/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Presente

Agosto – 2ª Fase (Linha 2)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
15/08/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
15/08/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente

Fonte: Próprio autor

Tabela 9 - Resultados das análises da segunda fase referente a Linha 3

Agosto – 2ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
01/08/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
01/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
01/08/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
01/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
01/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente

Agosto – 2ª Fase (Linha 3)		Resultados
Data da Coleta	Local	<i>Listeria spp</i>
01/08/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
01/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Ralo próximo a mesa de documento	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao tanque de inclusão	Ausente
15/08/20	Ralo próximo as bateadeiras	Ausente
15/08/20	Ralo próximo ao misturador	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao bocal	Ausente
15/08/20	Piso próximo a mesa de documento	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao tanque de inclusão	Ausente
15/08/20	Piso próximo as bateadeiras	Ausente
15/08/20	Piso próximo ao misturador	Ausente

Fonte: Próprio autor

Com o monitoramento dessa segunda etapa notou-se a diminuição das contaminações em todas as linhas, permanecendo apenas na linha 2, dois pontos nos quais se identificou a presença da bactéria, no ralo próximo a mesa de documentos e ralo próximo ao tanque de inclusão com sinalizações. Esta presença provavelmente se manteve por alguns fatores, sendo eles matéria orgânica no local, a má higienização, sanitização inadequada ou até mesmo a formação de biofilmes.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos foi possível detectar os focos de colonização por listéria e reduzir sua contaminação cruzada, apesar das coletas de monitoramento não terem sido realizadas diariamente ou em semanas consecutivas, como seria o ideal. Este planejamento de coletas foi definido por questão de custos, pois os materiais têm um custo elevado.

Conseguimos atingir o objetivo esperado deste trabalho, pois após a troca individual de utensílios para cada linha houve uma melhora significativa na detecção da bactéria, permanecendo apenas a linha 2 com as presenças, onde podemos chegar à conclusão que esta era a linha fonte propagação de contaminação para as demais, e a causa era o compartilhamento indevido dos utensílios, transferindo o microrganismo para as demais linhas da fábrica.

A linha 2, onde permaneceu a sinalização, será aberto uma investigação com planos de ações para buscarem a causa raiz e a eliminarem, para minimizar o risco da Listeria atinja o produto final, que se ocorrer, acarretará na necessidade de destruição deste produto gerando custos desnecessários.

A implementação será adotada pela empresa, e todos os funcionários serão devidamente treinados para que assim vejam a importância da segregação dos utensílios devido a contaminação microbiológica cruzada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3M™ PETRIFILM™. Guia de interpretação: Placa para *Listeria* em Monitoramento Ambiental. Disponível em: <<https://multimedia.3m.com/mws/media/586852O/guia-interp-placas-petriefilm-listeria.pdf>>. Acesso em: 02 de maio de 2020.

Informações importantes sobre *Listeria* sp. Que você precisa saber. **Neoprosecta**, 2018. Disponível em: <<https://blog.neoprosecta.com/5-informacoes-importantes-sobre-listeria-sp-que-voce-precisa-saber/>>. Acesso em: 20 de abril de 2020.

ABRAHÃO, Wanda Moscalewski *et al.* Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 289-296, 2008.

BEST, M.; KENNEDY, M. E.; COATES, F. Efficacy of variety of disinfectants against *Listeria* species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 56, n. 2; 1990.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Brasília, Diário Oficial da União, 16 set. 2004.

BRASIL. Portaria nº 15 de 23 de agosto de 1988 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Determina que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares. Diário oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 set. 1988.

CABEÇA, T. K., PIZZOLITTO, A. C., PIZZOLITTO, E. L. Assessment of action of disinfectants against *Listeria monocytogenes* biofilms. >*Alimentos e Nutrição*. 2006; 17 (2): 121-5.

CLOETE, T. E. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. **International Biodeterioration & biodegradation**, v. 51, n.4, 2003.

CNC/CNI/SEBRAE/ANVISA. Elementos de apoio: boas práticas e sistema APPCC. Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2001. 303 p.

DA SILVA, Laís Aparecida; CORREIA, Angela de Fátima Kanesaki. Manual de boas práticas de fabricação para indústria fracionadora de alimentos. **Revista de Ciência & Tecnologia**, v. 16, n. 32, p. 39-57, 2009.

FORSYTHE, S. J. **The Microbiology of Safe Food**. 2 ed. Chichester: Wiley Blackwell, 2010.

FRECE, J. *et al.* Comparison of conventional and molecular methods for the routine confirmation of *Listeria monocytogenes* in milk products produced domestically in Croatia. **Journal of Dairy Research**, London, v. 77, n. 1, 2010.

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 113, n. 1, 2007.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 18593:2018(E): Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling. 2018. 18 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JEMMI, T. STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. **Révue Scientifique et Technique – Office International des Epzooties**, Paris, v. 25, n. 2, 2006.

KHELEF, N.; LECUIT, M.; BUCHRIESER, C.; CABANES, D.; DUSSURGET, O.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes* and genus *Listeria*. In: DWORKIN, M.; FALKOW, S.; ROSENBERG, E.; SCHLEIFER, K.-H.; STACKEBRANDT, E. **The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria**. 3 ed. New York: Springer, 2006.

LIU, D. Identification, subtyping and virulence determination of *Listeria monocytogenes*, an important foodborne pathogen. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, 2006.

MEAD, P. S. *et al.* Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 5, n. 5, 1999.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 326, de 30 de julho de 1997. Regulamento técnico sobre as condições higiênicas-sanitárias e de boas práticas de

fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Brasília, Diário Oficial da União, 1º ago. 1997.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1.428, de 26 de novembro de 1993. Regulamento técnico sobre as inspeções sanitárias, boas práticas de produção/prestação de serviços e padrão de identidade e qualidade na área de alimentos. Brasília, Diário Oficial da União, 2 dez. 1993.

MONTVILLE, T. J; MATTHEWS, K. R. **Food Microbiology: Na Introduction**. 2 ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2008.

OLIVEIRA, Katherine Helena; SOUZA, José Antonio Ribeiro de; MONTEIRO, Alcilene Rodrigues. Caracterização reológica de sorvetes. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 3, p. 592-598, 2008.

OLIVEIRA, Maíra Maciel Mattos de; BRUGNETRA, Danilo Florisvaldo; PICCOLI, Roberta Hilsdorf. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.

ORAVCOVÁ, K. *et al.* Limitation in the detection of *Listeria monocytogenes* in food in the presence of competing *Listeria innocua*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 104, n. 2, p. 429-437, 2008.

POIMENIDOU, S. *et al.* *Listeria monocytogenes* attachment to and detachment from stainless steel surfaces in a simulated dairy processing environment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 75, n. 22, 2009.

RAMASWAMY, Vidhya *et al.* Listeria-review of epidemiology and pathogenesis. **Journal of Microbiology Immunology and Infection**, v. 40, n. 1, p. 4, 2007.

RIBEIRO-FURTINI, Larissa Lagoa; ABREU, Luiz Ronaldo de. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006.

ROBERTS, A. J.; WIEDMANN, M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v. 60, n. 5, 2003.

RYSER, E; MARTH, E. *Listeria, Listerioses, and Food Safety*. 3 ed. CRC Press Taylor & Francis Group, 2007

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/bacterias/2013listeria_monocytogenes.pdf>. Acesso em: 02 outubro de 2019.

SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes and Infection**, Paris, v. 9, n. 10, 2007.

SWAMINATHAN, B.; ROCOURT, J.; BILLE, J. *Listeria*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J; PFALLER, M. A.; TERNOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of Clinical Microbiology**. 6th. Ed. Washington D. C.: ASM Press, 1995, p. 341-348.

US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION *et al.* Draft guidance for industry: control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Fed. Regist, v. 82, p. 4803-4805, 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/files/food/published/Draft-Guidance-for-Industry--Control-of-Listeria-monocytogenes-in-Ready-To-Eat-Foods-%28PDF%29.pdf>>. Acesso em: 07 de março 2020.

VAID, R; LINTON, R. H; MORGAN, M. T. Comparison of inactivation of *Listeria monocytogenes* within a biofilm matrix using chlorine dioxide gas, aqueous chlorine dioxide and sodium hypochlorite treatments. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 4, 2009.

VENEGAS, M. C. *et al.* Detection of *Listeria monocytogenes* in raw whole milk for human consumption in Columbia by real-time PCR. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 4, 2009.

XAVIER, J. B. *et al.* Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Boletim de Biotecnologia**, v. 76, n. 1, p. 2-13, 2003.

ZHAO, T.; DOYLE, M. P.; ZHAO, P. Control of *Listeria monocytogenes* in a biofilm by competitive-exclusion microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, D. C., v. 70, n. 7, 2004.