

---

## SUMÁRIO

---

	<b>RESUMO</b>	<b>13</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>Identificação e caracterização fenotípica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Salmonella</i> spp. e <i>Staphylococcus aureus</i> isolados de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
2.1	Leite e segurança alimentar.....	18
2.2	<i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	19
2.3	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	25
2.4	<i>Salmonella</i> spp.....	32
2.5	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
3.1	Amostragem de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal.....	42
3.2	Isolamento e identificação de patógenos associados a doenças transmitidas por alimentos em leite pasteurizado e queijo Minas Frescal comercializados em Juiz de Fora, Minas Gerais.....	45
3.2.1	<i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	45
3.2.2	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	45
3.2.3	<i>Salmonella</i> spp.....	45
3.2.4	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	46
3.3	Emprego da técnica de PCR para a identificação molecular de patógenos isolados a partir de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal.....	48
3.4	Rastreamento dos laticínios com confirmação de patógenos isolados.....	49
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
4.1	Leite pasteurizado.....	50
4.1.1	<i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	50
4.1.2	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	51
4.1.3	<i>Salmonella</i> spp.....	51
4.1.4	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	52
4.2	Queijo Minas Frescal.....	53
4.2.1	<i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	53
4.2.2	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	54
4.2.3	<i>Salmonella</i> spp.....	57
4.2.4	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>

---

---

<b>CAPITULO 2</b>	<b>Estudo da ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em indústria processadora de queijo Minas Frescal</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>93</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>94</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>96</b>
3.1	O laticínio estudado.....	96
3.2	Procedimentos de amostragem na indústria.....	98
3.3	Procedimentos laboratoriais para isolamento, identificação e enumeração de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	99
3.3.1	Isolamento de <i>L. monocytogenes</i> a partir de amostras coletadas no ambiente e na linha de processamento de queijo Minas Frescal.....	99
3.3.2	Enumeração de <i>L. monocytogenes</i> em queijo Minas Frescal.....	99
3.3.3	Sorotipagem e Eletroforese em campo pulsado (PFGE).....	100
3.4	Procedimentos de eliminação do microrganismo e monitoramento do laticínio.....	100
3.4.1	Procedimentos de limpeza, desinfecção e reforma das instalações do laticínio	100
3.4.2	Procedimentos de monitoramento do laticínio.....	101
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>103</b>
4.1	Ocorrência de <i>L. monocytogenes</i> no ambiente, na linha de processamento e em amostras de queijo Minas Frescal.....	103
4.2	Enumeração de <i>L. monocytogenes</i> nas amostras de queijo Minas Frescal.....	105
4.3	Caracterização sorológica e molecular (PFGE) dos isolados de <i>L. monocytogenes</i> .....	106
4.4	Eliminação de <i>L. monocytogenes</i> e monitoramento do laticínio.....	107
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>107</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>107</b>

---

---

**LISTA DE TABELAS**

---

<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>Identificação e caracterização fenotípica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Salmonella</i> spp. e <i>Staphylococcus aureus</i> isolados de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal</b>	
Tabela 1	Número de padarias selecionadas para amostragem de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal por macrorregião de Juiz de Fora, MG.....	43
Tabela 2	Número de amostras, por marca de leite pasteurizado, submetidas a análises microbiológicas, no período seco, de junho a setembro de 2005.....	44
Tabela 3	Número de amostras, por marca de leite pasteurizado, submetidas a análises microbiológicas, no período chuvoso, de janeiro a março de 2006.....	44
Tabela 4	Oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR para identificação de <i>E. coli</i> O157:H7, <i>L. monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> spp. e <i>S. aureus</i> isolados de amostras de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal.....	49
Tabela 5	Contagem de <i>S. aureus</i> nas amostras de leite pasteurizado positivas para <i>S. aureus</i> analisadas no período chuvoso (verão).....	53
Tabela 6	Número de amostras de queijos Minas Frescal positivas para <i>S. aureus</i> por marca analisadas no período seco e suas respectivas contagens.....	58
Tabela 7	Número de amostras de queijos Minas Frescal positivas para <i>S. aureus</i> analisadas no período chuvoso e suas respectivas contagens.....	58
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>Estudo da ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em indústria processadora de queijo Minas Frescal</b>	
Tabela 1	Número, data e finalidades das visitas realizadas no laticínio estudado.....	98
Tabela 2	Amostras positivas e negativas para <i>L. monocytogenes</i> coletadas no ambiente e na linha de processamento de queijo Minas Frescal em um laticínio em Rio Pomba, MG – outubro de 2005.....	103
Tabela 3	Enumeração de <i>L. monocytogenes</i> em cinco amostras de queijos Minas Frescal coletadas em um laticínio em Rio Pomba, MG, em outubro de 2005...	105

---

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>Identificação e caracterização fenotípica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Salmonella</i> spp. e <i>Staphylococcus aureus</i> isolados de leite pasteurizado e queijo Minas Frescal</b>	
Figura 1	Mapa da cidade de Juiz de Fora, MG, dividida em macrorregiões.....	43
Figura 2	Fragmentos de 132 pb obtidos com a amplificação de um fragmento do gene <i>femA</i> de <i>S. aureus</i> isolados de amostras de leite pasteurizado.....	52
Figura 3	Fragmentos de 702 pares de bases obtidos com os oligonucleotídeos LM1/LM2, específicos para <i>L. monocytogenes</i> .....	55
<b>CAPITULO 2</b>	<b>Estudo da ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em indústria processadora de queijo Minas Frescal</b>	
Figura 1	Fluxograma de fabricação de queijo Minas Frescal no laticínio estudado.....	97
Figura 2	Montagem de vários géis de eletroforese em campo pulsado (PFGE) mostrando isolados de <i>L. monocytogenes</i> de queijos Minas Frescal coletados na indústria, de queijos coletados no varejo e do ambiente do laticínio.....	106

---

---

**LISTA DE ABREVIATURAS**

---

APHA	<i>American Public Health Association</i>
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> agar
DTA	Doenças transmissíveis por alimentos
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IDF	<i>International Dairy Federation</i>
IFT	<i>Institute of Food Technologists</i>
HE	Ágar Hektoen
LEB	<i>Listeria Enrichment Broth</i>
LIA	<i>Lysine Iron Agar</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PFGE	<i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>
RPM	Rotações Por Minuto
STEC	<i>Escherichia coli</i> produtora de enterotoxina semelhante à de <i>Shigella</i>
TSA	<i>Trypticase Soy Agar</i>
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i>
TSYEA	Ágar triptona-extrato de levedura
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>
XLD	Ágar xilose lisina desoxicolato

---