

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RELATÓRIO FINAL DO ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO DO  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA, REALIZADO JUNTO À  
ZANCHETTA ALIMENTOS LTDA, BAURU/SP E À FACULDADE DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (FMVZ), BOTUCATU/SP**

**Caso de interesse:** pesquisa de *Listeria monocytogenes* em amostras de *sushi* coletadas de cidades do interior de São Paulo, Brasil

Beatriz Pareschi Botelho

**Orientadora:** Profa. Dra. Hirasilva Borba

Relatório do Estágio Curricular em Prática Veterinária  
apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Unesp, para  
graduação em Medicina Veterinária

**JABOTICABAL – S.P.**

**2º Semestre/2025**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

RELATÓRIO FINAL DO ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO DO  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA, REALIZADO JUNTO À  
ZANCHETTA ALIMENTOS LTDA, BAURU/SP E À FACULDADE DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (FMVZ), BOTUCATU/SP

Caso de interesse: pesquisa de *Listeria monocytogenes* em amostras de  
*sushi* coletadas de cidades do interior de São Paulo, Brasil

Beatriz Pareschi Botelho

**Orientadora:** Profa. Dra. Hirasilva Borba

**Supervisores:** Ana Paula de Almeida Teixeira e Juliano  
Gonçalves Pereira

JABOTICABAL – S.P.  
2º SEMESTRE DE 2025

## Ficha catalográfica

B748r	<p>Botelho, Beatriz Pareschi</p> <p>Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de medicina veterinária : Caso de interesse: pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> em amostras de sushi coletadas de cidades do interior de São Paulo, Brasil / Beatriz Pareschi Botelho. -- Jaboticabal, 2025</p> <p>66 p.</p> <p>Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientadora: Hirasilva Borba</p> <p>1. Garantia de qualidade. 2. Microbiologia sanitária. 3. Infecções bacterianas.</p> <p>I. Título.</p>
-------	---

# Certificado de Aprovação



**Beatriz Pareschi Botelho**

**Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de Medicina Veterinária, realizado junto à Zanchetta Alimentos Ltda, Bauru/SP e à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu/SP**

Caso de interesse: pesquisa de *Listeria monocytogenes* em amostras de sushi coletadas de cidades do interior de São Paulo, Brasil

Relatório de Estágio em Prática Veterinária apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, para obtenção do título de Bacharel em **Medicina Veterinária**.

Orientador: Profa. Dra. Hirasilva Borba

Coorientador (se houver):

Área de Concentração: Inspeção sanitária de alimentos

Trabalho aprovado em 11/12/2025

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** HIRASILVA BORBA  
Data: 15/12/2025 12:11:53-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Hirasilva Borba  
UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** LUCAS EMANUEL FERREIRA  
Data: 13/12/2025 21:19:27-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Lucas Emanuel Ferreira  
UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ISABELA CRISTINA MILLA  
Data: 11/12/2025 21:41:14-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Isabela Cristina Milla  
Profissional independente

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** PAOLA CASTRO MORAES  
Data: 15/12/2025 12:44:06-0300  
verifique em <https://validar.iti.gov.br>

si - Coordenador de Estágio do Curso de Medicina Veterinária

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço aos meus pais, João e Renata, por acreditarem nas minhas escolhas e por fornecerem meios para que eu realizasse a graduação do início ao fim, além de estarem sempre presentes, incluindo meu irmão, João Vitor, me dando apoio e confiança. Sem vocês três, seria muito mais difícil alcançar e concluir esta etapa. Vocês são essenciais na minha vida, em todas as etapas, amo muito vocês.

Ao meu namorado, Vinícius, que sempre se fez presente, sempre soube me ouvir, me apoiar e não me deixa desistir da caminhada. Seu apoio e amor me dão forças para continuar a seguir meus sonhos.

Às minhas amigas, Maria Luiza, Andressa, Julia, Juliana, Bettina e Marina, que estão presentes em minha vida desde antes do ensino superior. A presença de vocês nos momentos difíceis e a alegria compartilhada nas conquistas torna tudo mais fácil e especial.

Aos meus amigos de graduação, que desde o início tornaram a graduação mais leve e acolhedora. Sempre presentes em festas, conversas, viagens, dificuldades, trabalhos e estudos. Nunca permitiram que eu me sentisse sozinha em uma nova cidade. Com certeza esses anos não seriam tão bons e proveitosos sem a presença de todos vocês.

À minha orientadora, Profa. Dra. Hirasilva Borba, pela orientação na minha iniciação científica e no meu estágio, possibilitando meu crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Mateus de Souza Ribeiro Mioni, que me deu a oportunidade de ser monitora em uma de suas disciplinas, contribuindo com meu desenvolvimento, e facilitou meu contato com a empresa para realizar o estágio curricular obrigatório.

À equipe do Laboratório de Análise de Alimentos de Origem Animal (LAORA), da qual fiz parte nos meus dois últimos anos de graduação e que me auxiliaram no meu projeto de iniciação científica, meu muito obrigada a cada um de vocês que cruzou meu caminho, em especial à Isabela Cristina Milla e ao Lucas Emmanuel Ferreira, essenciais nessa etapa.

À UNESP/FCAV, local no qual sempre foi meu sonho de estar, que me proporcionou muitas oportunidades, crescimento pessoal e profissional, me permitiu conhecer diversas pessoas importantes para a minha trajetória e se

tornou minha segunda casa. Agradeço a todos os professores da FCAV, que tive a honra de conhecer e assistir às aulas, por contribuírem para me tornar uma profissional melhor.

Aos supervisores de estágio, Ana Paula de Almeida Teixeira e Juliano Gonçalves Pereira, por me proporcionarem um ambiente de aprendizado técnico e profissional e pelo apoio durante os meses compartilhados. Agradeço às duas equipes que tive o prazer de compartilhar meus dias nos dois locais de estágio, que me ensinaram muito. Um agradecimento especial ao médico veterinário e mestrando do laboratório da FMVZ/UNESP, Tales H. Vertuan, pela grande ajuda no desenvolvimento do caso de interesse trazido neste trabalho.

Ao Grupo de Estudos em Pequenos Animais (GEPA), grupo do qual fiz parte durante cinco anos da graduação e pude crescer muito, pessoal e profissionalmente, além de se tornarem uma segunda família para mim.

A todos os meus animais de estimação, aos presentes e aos que já se foram. Em especial ao meu primeiro cão, Polenta, que fez o meu amor pelos animais crescer cada vez mais e me direcionar para minha escolha de profissão.

A todos os meus familiares, que torceram por mim por todos esses anos.

Por fim, à minha falecida avó, Etel, uma grande admiradora da natureza e amante dos animais, que sempre me inspirou com sua força, coragem e simplicidade. Você sempre estará comigo, tenho certeza de que estaria orgulhosa de ver sua neta se tornar Médica Veterinária.

## SUMÁRIO

<b>I. Relatório de estágio</b> .....	13
<b>1. Introdução</b> .....	13
<b>2. Descrição dos locais de estágio</b> .....	13
<b>2.1. Zanchetta Alimentos Ltda.</b> .....	13
<b>2.2. Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ/UNESP</b> .....	17
<b>3. Descrição das atividades</b> .....	20
<b>3.1. Zanchetta Alimentos Ltda.</b> .....	20
<b>3.2. Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ/UNESP</b> .....	24
<b>4. Discussão das Atividades Desenvolvidas</b> .....	39
<b>4.1. Zanchetta Alimentos Ltda.</b> .....	39
<b>4.2 Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ /UNESP</b> .....	40
<b>5. Considerações Finais</b> .....	41
<b>II. Monografia</b> .....	42
<b>1. Introdução</b> .....	42
<b>2. Revisão de literatura</b> .....	43
<b>2.1 Culinária japonesa no Estado de São Paulo</b> .....	43
<b>2.2 Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA)</b> .....	44
<b>2.3 <i>Listeria spp.</i> e listeriose</b> .....	45
<b>2.4 Formação de biofilme</b> .....	49
<b>2.5 Garantia da qualidade (GQ) e boas práticas de manipulação (BPM)</b> .....	51
<b>3. Caso de interesse</b> .....	52
<b>4. Considerações finais</b> .....	60
<b>Referências</b> .....	62

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Entrada principal (portaria 1) da Zanchetta, unidade de Bauru, SP .....	14
<b>Figura 2.</b> Curral de matança (nº 6) com lotação máxima de 53 animais .....	16
<b>Figura 3.</b> Entrada principal do prédio do SOAP .....	17
<b>Figura 4.</b> Local de recepção e registro de amostras no sistema .....	18
<b>Figura 5.</b> Câmaras de refrigeração na sala de armazenamento de amostras, para amostras que necessitam ser mantidas sob refrigeração .....	18
<b>Figura 6.</b> Estrutura do SOAP .....	19
<b>Figura 7.</b> Estrutura do SOAP .....	19
<b>Figura 8.</b> Sala de pesagem e semeadura de amostras .....	25
<b>Figura 9.</b> Sala de incubação e repique .....	25
<b>Figura 10.</b> Laboratório de análises físico-químicas .....	25
<b>Figura 11.</b> Quatro autoclaves presentes na sala de lavagem e preparo de materiais. ....	26
<b>Figura 12.</b> Local de preparo dos meios e pasta com os POPs correspondentes .....	26
<b>Figura 13.</b> Placas de antibiograma para E. coli, apresentando resistência à maioria dos antibióticos na placa da esquerda e sensibilidade a todos antibióticos na placa da direita .....	27
<b>Figura 14.</b> Gráfico de pizza representando os tipos e a quantidade de amostras que chegaram ao SOAP no período de 29 de setembro a 14 de novembro de 2025 .....	28
<b>Figura 15.</b> Gráfico de pizza representando a quantidade das principais análises realizadas no laboratório de microbiologia do SOAP no período de 29 de setembro a 14 de novembro de 2025 .....	29
<b>Figura 16.</b> Ficha de acompanhamento de análises microbiológicas do SOAP (FMVZ/UNESP) .....	29
<b>Figura 17.</b> Frasco com amostra de fórmula infantil diluída recebida diariamente no SOAP, com o adesivo de identificação interna do laboratório .....	31
<b>Figura 18.</b> Tubo de ensaio com caldo VB e tubo de Durham dentro à esquerda e, à direita, tubos de Durham .....	31
<b>Figura 19.</b> Tubo de Durham, à esquerda, com gás na sua parte interna, indicando presença de coliformes totais na amostra .....	32
<b>Figura 20.</b> Sachês de COLItest® para detecção de coliformes totais e E. coli em amostras de água .....	32
<b>Figura 21.</b> Frascos com amostras de água após adição do COLItest® e permanência por 48h em estufa a 36 °C, evidenciando a ausência de coliformes, à esquerda, e a presença de coliformes, à direita .....	33
<b>Figura 22.</b> Frasco de Reativo de Kovacs, à esquerda, e tubo com amostra de água após utilização do reativo e formação de halo vermelho, à direita .....	33
<b>Figura 23.</b> Teste de fluorescência em amostra de água, confirmando a presença de E. coli devido à fluorescência azul ao incidir a luz da lâmpada na amostra. À direita, a estagiária Beatriz Pareschi Botelho realiza o teste de fluorescência .....	33
<b>Figura 24.</b> Ficha de registro laboratorial de ensaios físico-químicos do SOAP (FMVZ/UNESP) .....	34
<b>Figura 25.</b> Vinte e cinco amostras de leite humano nos copinhos plásticos, junto de fenolftaleína a 1% e água destilada, para realização da análise de acidez Dornic ...	36
<b>Figura 26.</b> Realização da titulação com solução Dornic, à esquerda, e mudança de cor do leite de branco para rósea, à direita .....	36
<b>Figura 27.</b> Amostras de leite humano prontas para serem aquecidas no banho-maria .....	37

<b>Figura 28.</b> À esquerda, realização da coleta da amostra por meio de tubo capilar e, à direita, vedação do tubo capilar com auxílio do bico de Bunsen .....	37
<b>Figura 29.</b> Capilares posicionados com a extremidade vedada para a parte externa do aparelho de centrifugar .....	38
<b>Figura 30.</b> Centrífuga utilizada para a centrifugação do leite humano.....	38
<b>Figura 31.</b> Leitura da coluna de creme e da coluna total (creme + soro) no tubo de capilar por meio de régua milimetrada .....	38
<b>Figura 32.</b> Algumas das amostras de sushi que foram coletadas para o projeto de mestrado acompanhado.....	53
<b>Figura 33.</b> Balança analítica utilizada para a pesagem de 25 gramas de amostra...	54
<b>Figura 34.</b> Amostra (25g) acondicionada no saco plástico estéril junto de 225 mL de caldo LEB.....	54
<b>Figura 35.</b> Aparelho “Stomacher”, utilizado para homogeneização de amostras diluídas em meio .....	55
<b>Figura 36.</b> Estufas utilizadas no laboratório de microbiologia do SOAP .....	55
<b>Figura 37.</b> Caldo Fraser em tubo de ensaio .....	56
<b>Figura 38.</b> Colônias características de <i>Listeria monocytogenes</i> em ágar OXA .....	56
<b>Figura 39.</b> Colônias características de <i>Listeria monocytogenes</i> em ágar ALOA .....	57
<b>Figura 40.</b> Colônias típicas de <i>Listeria monocytogenes</i> em ágar TSA-YE .....	58
<b>Figura 41.</b> Placa de Petri com ágar sangue, com repique tanto de OXA (O) quanto de ALOA (A) de uma amostra e controle positivo (C+) .....	59
<b>Figura 42.</b> Placa de Petri com açúcar ramnose, com repique tanto de OXA (O) quanto de ALOA (A) e um controle positivo (C+) .....	60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais análises FQ realizadas no SOAP em amostras de leite pasteurizado, água, mel e produtos cárneos. ....	35
<b>Tabela 2.</b> Distribuição temporal e regional de surtos de DTHA causados por <i>Listeria monocytogenes</i> entre os anos de 2000 e 2003, no Brasil, com alimento causador, número de expostos, doentes e óbitos.....	47
<b>Tabela 3.</b> Características comumente utilizadas na diferenciação de espécies do gênero <i>Listeria</i> , com foco nas duas espécies relacionadas a infecções em humanos. ....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AC: aeróbios mesófilos
- AFFA: Auditor Fiscal Federal Agropecuário
- AISIPOA: Agente de Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal
- ALOA: Ágar Cromogênico para *Listeria*
- ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- APPCC: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
- APT: Água peptonada tamponada
- BC: *Bacillus cereus*
- BEA: Bem-estar Animal
- BP: Baird-Parker
- BPF: Boas práticas de Fabricação
- BPM: Boas práticas de Manipulação
- BS: Bismuto sulfito
- CQ: Controle da Qualidade
- CRONO: ágar Cromogênico de Isolamento de *Cronobacter* Harlequin
- DTHA: Doenças de transmissão hídrica e alimentar
- EB: *Enterobacteriaceae*
- EC: *Escherichia coli* / Coliformes totais
- EPIs: Equipamentos de Proteção Individual
- FCAV: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
- FFO: Fábrica de Farinha e Óleos
- FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
- GQ: Garantia da Qualidade
- GTA: Guia de Trânsito Animal
- IN: Instrução Normativa
- LEB: caldo de enriquecimento para *Listeria*
- LIA: Lisina ferro
- LM: Lauryl modificado
- MAPA: Ministério da Agricultura e Pecuária
- MER: Material Específico de Risco
- MS: Ministério da Saúde
- OXA: Ágar Oxford

PAC: Programa de Autocontrole  
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase  
POP: Procedimento Operacional Padrão  
PPHO: Procedimento Padrão de Higiene Operacional  
PPHPO: Procedimento Padrão de Higiene Pré-Operacional  
PSO: Procedimento Sanitário Operacional  
RT: Responsável Técnico  
RV: Rappaport Vassiliadis  
SIF: Serviço de Inspeção Federal  
SOAP: Serviço de Orientação à Alimentação Pública  
SS: Solução Salina (cloreto de sódio 0,85%)  
TSA-YE: ágar triptona de soja com 0,6% de extrato de levedura  
TSB-YE: caldo triptona de soja com 0,6% de extrato de levedura  
TSC: Triptose sulfito cicloserina  
TSI: Triplo açúcar ferro  
TT: Tetracionato  
VB: caldo Verde brilhante bile lactose  
VISA: Vigilância Sanitária  
XLD: Xilose lisina desoxicolato  
YM: Bolores e leveduras

## **I. Relatório de estágio**

### **1. Introdução**

O presente relatório tem como objetivo descrever as atividades desenvolvidas pela discente durante o estágio curricular obrigatório em prática veterinária desenvolvido no último semestre do curso de graduação em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal.

O período de estágio abrangeu de 04 de agosto a 19 de novembro de 2025, sendo dividido em dois locais, a empresa Zanchetta Alimentos Ltda., localizada em Bauru/SP, no setor de Garantia da Qualidade, e o Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP), em Botucatu/SP, na área de Inspeção Sanitária de Alimentos.

Em ambos os locais, foram realizadas 8 horas diárias (40 horas semanais), de segunda à sexta-feira, cumprindo um total de 612 horas, atingindo a carga horária mínima exigida pela graduação para a conclusão do curso, que é de 600 horas.

A professora orientadora de estágio foi a Profa. Dra. Hirasilva Borba, professora associada do Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental da FCAV. Já os supervisores de estágio foram a Médica Veterinária Ana Paula de Almeida Teixeira, na empresa Zanchetta, e o Prof. Dr. Juliano Gonçalves Pereira, na FMVZ/UNESP.

O estágio curricular obrigatório é essencial para a formação dos discentes de graduação, uma vez que possibilita vivências fora da Faculdade de origem, trazendo desenvolvimento pessoal e profissional, novos aprendizados práticos e teóricos na área de interesse e possibilidade de expandir o *networking*.

### **2. Descrição dos locais de estágio**

#### **2.1. Zanchetta Alimentos Ltda.**

O grupo Zanchetta foi fundado por José Carlos Zanchetta, em 1995, e se caracteriza como uma empresa brasileira de processamento de alimentos de origem animal, com foco em aves de corte e bovinos. O

grupo, atualmente, inclui as marcas Mondelli, Alliz e Frangoeste, com unidades de abate de bovinos em Bauru/SP e Batayporã/MS; e de aves em Boituva/SP e Tietê/SP.

A empresa possui sistema de inspeção federal SIF (Serviço de Inspeção Federal), concedida pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) e habilitação para exportar carne bovina para África do Sul, Arábia Saudita, Argélia, Argentina, Chile, Cuba, Egito, Emirados Árabes Unidos, Filipinas, Hong Kong, Irã, Iraque, Jordânia, Líbano, Marrocos, Nova Zelândia, Omã, Palestina, Paraguai, Peru, Reino Unido, Singapura, Ucrânia, União Europeia e Uruguai. Além disso, possui certificação FAMBRAS Halal, fornecida por uma certificadora que atua há mais de 40 anos na América Latina garantindo produtos lícitos e seguros para a comunidade muçulmana mundial. Ambos os selos permitem que a empresa exporte seus produtos para 29 países e territórios, além da comercialização no mercado interno.

A planta industrial Mondelli (Figura 1), em Bauru/SP, marca que está presente no mercado nacional desde 1935 e no internacional desde 1988, foi adquirida pelo grupo Zanchetta em 2019. Nesta unidade, são abatidos apenas bovinos, sendo aproximadamente 700 animais por dia, de segunda à sexta-feira, em apenas um turno.



**Figura 1.** Entrada principal (portaria 1) da Zanchetta, unidade de Bauru, SP. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

A estrutura da unidade de Bauru é composta pela parte administrativa, refeitório para alimentação dos funcionários, vestiários, área para desembarque e currais para alocação dos animais, setor do

abate, setor de cortes e desossa, setor de miúdos, setor de bucharia e triparia, divididas em áreas suja e limpa, fábrica de farinha e óleos (FFO), dividida entre crua e cozida, sala de couro e área de produção de charque e *jerked beef*, além do setor de expedição e das caldeiras, para geração de calor na indústria.

A área da Garantia da Qualidade (GQ) está presente em todos os setores da indústria, realizando monitoramento e verificações, para que os produtos mantenham seu padrão de qualidade desde o desembarque dos animais à expedição dos produtos.

Para além do monitoramento e verificação diretos na indústria, a GQ é responsável por elaborar e revisar o programa de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e diversos Programas de Autocontrole (PACs), que incluem Boas Práticas de Fabricação (BPFs), Procedimentos Operacionais Padrão (POP), Procedimentos Padrão de Higiene Pré-operacionais e Operacionais (PPHPO e PPHO), Procedimentos Sanitários Operacionais (PSOs) e análises laboratoriais. Nesse contexto, destacam-se, ainda, as áreas de Rastreabilidade, Assuntos Regulatórios e Bem-Estar Animal (BEA), que são correlatas e complementares às atividades da GQ.

Além disso, existem outras áreas de importância na indústria, como a Segurança do Trabalho, a Manutenção e a Equipe de Higienização. Diversas identificações são feitas nos colaboradores, para facilitar a identificação de seus cargos, setores ou funções.

Colaboradores da higienização utilizam roupas vermelhas, colaboradores que manipulam os alimentos utilizam roupas brancas, colaboradores do curral e da manutenção utilizam roupas azul-escuras e colaboradores que realizam as operações de Material Específico de Risco (MER) utilizam roupas azul-claro e luvas roxas/lilás. Além disso, capacetes brancos são concedidos aos colaboradores da indústria e aos coordenadores. Capacetes verdes são para líderes, amarelos, para supervisores, laranjas, para a equipe da GQ e capacete vermelho para visitantes ou funcionários terceirizados.

A indústria conta com 28 currais para alocar os bovinos, 20 que comportam 26 animais e 8 que comportam 53 animais (Figura 2),

possibilitando a alocação de 944 animais. Também há dois currais de sequestro e um prédio de abate de emergência.



**Figura 2.** Curral de matança (nº 6) com lotação máxima de 53 animais. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Todos os caminhões, após desembarcarem os animais, passam por higienização e sanitização antes de deixarem as dependências da empresa. Os animais que chegam em um dia, serão abatidos no dia seguinte, passando a noite nos currais da empresa. O abate costuma iniciar por volta das 6h20, com término às 14h30 (podendo ter variações conforme o dia, quantidade de animais e imprevistos). Os animais são submetidos à dieta hídrica e jejum de no mínimo 6 horas e no máximo 24 horas antes do abate. Caso esse tempo seja excedido, eles são alimentados nos currais e se espera 6 horas pós-alimentação para seu abate.

O método de insensibilização utilizado é o percussivo penetrativo (com tempo de insensibilização até a sangria de 60 segundos) e, em alguns casos, quando necessário, o percussivo não penetrante (com tempo de insensibilização até a sangria de 30 segundos).

Nas primeiras 2h30, aproximadamente, do abate, é realizado o abate Halal, com degola. No restante do período, é realizada a sangria tradicional, com abertura sagital da barbela e secção da aorta e veia cava. O animal deve sangrar por, no mínimo, 3 minutos até o início da esfolagem.

A indústria conta com mais de um Auditor Fiscal Federal Agropecuário (AFFA) e Agente de Inspeção Sanitária e Industrial de

Produtos de Origem Animal (AISIPOA), funcionários concursados federais, responsáveis por fiscalizar esta planta industrial. Os procedimentos *ante-mortem* e *post-mortem* são realizados pelos médicos veterinários do SIF. Além disso, existe uma equipe do SIF dentro do setor do abate, devidamente treinada, responsável pela inspeção dos órgãos e carcaças.

A equipe da GQ é composta pelos auxiliares, analistas, uma supervisora e uma coordenadora, além de jovens aprendizes.

## **2.2. Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ/UNESP**

O SOAP (Figura 3) é um laboratório que pertence ao Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ/UNESP, campus de Botucatu. A equipe que integra o laboratório é composta por professores da graduação e pós-graduação, técnicos de laboratório, dois residentes (residentes em inspeção sanitária de alimentos), discentes de pós-graduação, estagiários e alunos de iniciação científica.



**Figura 3.** Entrada principal do prédio do SOAP.  
**Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

O laboratório realiza análises microbiológicas, sensoriais, físico-químicas e biomoleculares (PCR) de alimentos e água, recebendo amostras de indústrias de alimentos, hospitais e serviços de alimentação de Botucatu e de cidades da região ou até de outros Estados. Além disso, um AFFA ocupa uma sala dentro das dependências do laboratório.

Logo na entrada do prédio há uma sala de recepção de amostras (Figura 4), na qual é realizado o registro, no sistema, das amostras recebidas e de quais análises serão realizadas. Nesse momento, a

amostra recebe um código para uso interno do laboratório. O horário de recebimento de amostras é das 8h às 11h e das 14h às 17h, de segunda à sexta-feira. Anualmente, o local recebe, aproximadamente, 2500 amostras para análise.



**Figura 4.** Local de recepção e registro de amostras no sistema. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

O laboratório tem um prazo de 15 dias úteis para emissão do laudo, mantendo as amostras armazenadas adequadamente no local por mais 15 dias (Figura 5), sendo descartadas posteriormente em lixeiras com sacos plásticos da cor preta.



**Figura 5.** Câmaras de refrigeração na sala de armazenamento de amostras, para amostras que necessitam ser mantidas sob refrigeração. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Todas as análises realizadas no laboratório de físico-química e todos os passos para o preparo de meios de cultura e ágar para uso no laboratório de microbiologia são descritos em POPs, separados em pastas específicas, de forma a padronizar os procedimentos, facilitar o entendimento e minimizar os erros.

O prédio é composto por uma sala de armazenamento de amostras (a e b), sala de pesagem e semeadura de amostras (c), sala de incubação e repique (d), composta por diversas estufas de diferentes temperaturas e banho-maria, almoxarifado (e), laboratório de análises físico-químicas (f), sala de lavagem e preparo de materiais (g), laboratório de biologia molecular em alimentos (h), sala de reagentes químicos (i), refeitório (k), sanitários (l) e área destinada para a unidade técnica regional de Agricultura e Pecuária (UTRA), onde o AFFA trabalha, além de um laboratório extra, utilizado para algumas aulas práticas da graduação (Figura 6 e Figura 7).



**Figura 6.** Estrutura do SOAP. **a.** sala de armazenamento de amostras; **b.** câmara fria para armazenar amostras; **c.** sala de pesagem e semeadura; **c1.** capelas de fluxo laminar; **d.** sala de incubação e repique; **d1.** estufas; **d2.** estufas; **e.** almoxarifado. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 7.** Estrutura do SOAP. **f.** laboratório de análises físico-químicas; **g.** sala de lavagem e preparo de materiais; **h.** laboratório de biologia molecular em alimentos; **i.** sala de reagentes químicos; **j.** corredores do prédio; **k.** refeitório/cozinha; **l.** sanitários. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

### 3. Descrição das atividades

#### 3.1. Zanchetta Alimentos Ltda.

O período de estágio na empresa foi de 04 de agosto a 26 de setembro de 2025, com uma carga horária de 8h/dia, tendo uma hora de almoço, de segunda à sexta-feira, perfazendo um total de 320 horas de estágio.

Inicialmente, no primeiro dia de estágio, foi possível participar da integração de novos funcionários da empresa, na qual foi passada um pouco da história do Grupo Zanchetta e suas atividades atuais, além de nos orientarem sobre diversas regras da empresa, como boas práticas de fabricação (BPF), cuidados relacionados à segurança do trabalho, uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e outras informações pertinentes para iniciar as atividades na empresa.

Na primeira semana, foi realizada uma visita a todos os setores de produção da empresa para conhecer um pouco mais sobre as atividades desenvolvidas, sempre acompanhando o auxiliar da GQ responsável pelo setor, que explicou o fluxograma do local e a função de cada colaborador, assim como a rotina de monitoramento (CQ). Os setores foram: curral (relacionado ao recebimento dos animais e ao bem-estar animal), abate, desossa, miúdos e bucharia/triparia, fábrica de farinha e óleos (FFO) e charque/*jerked beef*.

Na segunda semana, o estágio se concentrou no setor da desossa e na terceira, no setor de miúdos, bucharia e triparia. Já nas três semanas seguintes, ocorreu no setor do abate, e nas duas últimas semanas, totalizando as oito semanas de estágio, acompanhou-se as atividades no curral, desde a recepção dos animais ao abate, aprendendo sobre bem-estar animal e rastreabilidade. De forma geral, os setores possuem planilhas de BPF, PPHPO e PPHO e PSO, que são preenchidas pelos auxiliares da GQ.

Durante a passagem na desossa, acompanhou-se os auxiliares da GQ responsáveis, realizando preenchimento de planilhas e observação geral do setor e das atividades realizadas pelos colaboradores. Foram realizadas medições de temperatura dos quartos traseiros e quartos dianteiros a cada duas horas, que estavam sendo retirados da câmara fria,

para garantir que os colaboradores estivessem retirando carnes em temperatura adequada para seguir para os cortes.

Após os intervalos, era realizado monitoramento na barreira sanitária, para garantir que todos os colaboradores estivessem cumprindo o POP de higienização das mãos e as regras de ausência de barba e bigode, adornos, unhas longas ou pintadas etc. Outro ponto importante era a verificação de temperatura dos esterilizadores espalhados pela desossa, contabilizando oito, aproximadamente. Além disso, eram realizadas verificações de caixas prontas, de alguns cortes, para exportação, para observar se estavam de acordo com o padrão da empresa (quantidade de peças na caixa, temperatura das peças, padrão do corte e informações presentes na etiqueta).

Na semana de estágio no setor de miúdos, bucharia e triparia, foram realizadas atividades como verificação de temperatura dos miúdos na câmara fria, assim como dos buchos, para liberar ou não seu seguimento para a embalagem. Também eram conferidas as etiquetas que iriam nas caixas, avaliando as informações contidas nelas, e os esterilizadores do setor tinham sua temperatura aferida a cada duas horas. A estagiária e as auxiliares eram responsáveis por observar as atividades dos colaboradores, para garantir o cumprimento dos POPs, por aferir a temperatura de produtos já embalados e por conferir a padronização dos produtos dentro das caixas.

No setor de bucharia, a estagiária auxiliou, durante dois dias de produção, no registro de temperatura dos buchos destinados à exportação, que deveriam ser embalados a uma temperatura de no máximo 20 °C. Após o congelamento, estava sendo relatado problemas na qualidade dos produtos, e essa foi a ação preventiva tomada para tentar descobrir e eliminar a causa do problema, além de ser realizada uma melhor orientação aos colaboradores da bucharia, sobre a temperatura ideal para embalar os produtos.

Nas semanas de atuação no abate, também eram aferidas as temperaturas dos esterilizadores, assim como em outros setores, e era realizada a observação do cumprimento dos POPs, por parte dos colaboradores, e da higienização e organização do ambiente.

Uma das planilhas exclusivas do setor é a de monitoramento de Ponto de Controle (PC). O monitoramento dos PCs é realizado a cada duas horas em dois pontos, o monitoramento das cabeças, logo após desarticulação e lavagem, e o monitoramento de meias carcaças na região dianteira e traseira, já no final do fluxograma da sala de abate.

No monitoramento de cabeças, eram contabilizados os dados do ábaco (referente à quantidade de contaminantes removidos pelo colaborador), que deveria estar dentro do limite máximo de 7 contaminantes para estar conforme. Depois, realizava-se o monitoramento de cinco cabeças e, caso passasse alguma contaminação pelo colaborador responsável, deveria ser solicitada a retirada do contaminante e, se necessário, parar a nória de abate. Os contaminantes presentes na planilha são ingesta, couro, cílios, pelos e outros.

Já no monitoramento de meias carcaças, também se contabilizava os dados do ábaco, que deveriam somar no máximo 5 contaminantes para ser considerado conforme. Em seguida, era realizado o monitoramento de 16 meias carcaças (8 carcaças), na região dianteira e traseira, de forma que, se alguma contaminação fosse detectada, deveria ser orientado ao colaborador que retirasse o contaminante com margem de segurança e, se necessário, parar a nória. Os contaminantes da planilha eram pelos, couro, graxa, fuligem, abscesso e outros, como vacinas.

Durante as duas últimas semanas as atividades foram no curral, no qual também foi realizado preenchimento de planilhas, que incluíam a observação da condição dos currais, como higienização, disponibilidade de água para os animais e lotação. Também era observado o manejo dos animais desde o curral até a rampa e seringa, a ocorrência de quedas dos animais e de aplicação de choque, assim como sua voltagem. A estagiária acompanhava, junto da analista do BEA, o manejo dos animais desde o curral até a seringa e outros pontos dentro da sala de abate, pelo menos duas vezes ao dia. Dentro do setor do abate, era anotado a velocidade da nória, a pressão da pistola de insensibilização, verificação da correta insensibilização do animal, tempo da insensibilização até a sangria e tempo de sangria até a esfolagem, entre outros pontos.

No curral, também foi possível acompanhar o registro, em sistema informatizado e planilhas de Excel, dos lotes de animais que chegariam na empresa, anotando a ordem de chegada dos lotes, cidade de origem, tempo de viagem, nome do proprietário e da propriedade, entre outras informações, e a organização de quais lotes ficariam em quais currais. Também era feita a verificação de documentos obrigatórios relativos às informações do lote e transporte dos animais, como a Guia de Trânsito Animal (GTA).

Além disso, houve a oportunidade de acompanhar uma visita técnica, acompanhada da analista do BEA, a uma propriedade, para observação das condições e do embarque dos animais que seguiriam para o frigorífico, identificando possíveis causas para a presença de hematomas nas carcaças.

Ademais, auxiliou-se na edição de ficha técnica de quatro novos produtos (cortes) que seriam destinados refrigerados a um comprador na Singapura. A ficha técnica é importante para ter registrado em documento o padrão daquele produto vendido pela empresa, então foram revisados pontos como quantidade de peças dentro da caixa de expedição, peso aproximado da caixa, descrição do produto, padrão do corte, modelo de etiqueta, entre outros.

Por fim, a estagiária acompanhou por um dia a coleta, por *swab*, de superfícies de alguns setores antes do início da produção, material este enviado para laboratório externo, como medida de controle da higienização do ambiente após o final da produção do dia anterior e manutenção da qualidade do produto final. Foi feita a coleta de diversas superfícies e materiais, em setores diferentes da indústria, e das mãos de uma colaboradora da triparia limpa, com o uso de *swab*.

Em outro dia, foi acompanhada a coleta de amostras de carne (produto acabado), no setor da desossa, e coleta de água de torneira, localizada no corredor de carcaças destinado às câmaras de refrigeração, pós sala de abate. Os pontos e frequência de coleta de amostras são definidos em PAC da própria empresa e cronograma mensal, com base nas legislações vigentes e diretrizes de órgãos reguladores.

### **3.2. Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ/UNESP**

O período de estágio no laboratório foi de 29 de setembro a 19 de novembro de 2025, com uma carga horária de 8h/dia, tendo uma hora de almoço, de segunda à sexta-feira, perfazendo um total de 292 horas de estágio.

A rotina diária se inicia com o registro de temperatura das estufas, da incubadora BOD e do banho-maria, presentes na sala de incubação, em planilhas específicas (cada equipamento tem sua própria planilha). Existe um termômetro dentro de cada equipamento, fixo, e a aferição é realizada dessa forma, no início e no final do expediente de cada dia.

A temperatura ideal do banho-maria é de 41 °C, da BOD é de 10 °C e das estufas são de 22 °C, 30 °C, 36 °C, 44 °C e 46 °C.

Após isso, é realizada a higienização, com álcool 70%, das quatro capelas de fluxo laminar presentes nas salas de semeadura e de incubação e, então, é deixada acesa a luz UV de cada capela por 15 minutos.

Em seguida, os residentes e estagiários realizam a leitura de placas de Petri e Petrifilm® armazenadas nas estufas, que já ficaram o tempo necessário na estufa de acordo com a análise, registrando a contagem ou resultado nas fichas correspondentes das amostras.

Após todo esse processo inicial, são separadas as amostras que irão ser pesadas e semeadas no dia, na sala de semeadura (Figura 8). Então são separadas suas fichas e todos os materiais necessários, conforme a análise que será feita, e é realizada a identificação dos materiais, com o número da amostra, data e diluição que será utilizada.



**Figura 8.** Sala de pesagem e sementeira de amostras.  
**Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Depois da sementeira, na sala de repique (Figura 9) são realizados repiques de um meio de cultura para outro ou estriações em placas de Petri, de amostras de dias anteriores que já passaram por um período na estufa ou no banho-maria.



**Figura 9.** Sala de incubação e repique.  
**Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Já as análises no laboratório de físico-química (Figura 10) são realizadas posteriormente à conclusão das atividades no laboratório de microbiologia, local no qual se iniciam as atividades diariamente por ser considerado um ambiente limpo.



**Figura 10.** Laboratório de análises físico-químicas. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Além disso, é sempre importante se atentar se os meios de cultura ou os materiais estéreis estão acabando, como colheres, pinças e ponteiros. O procedimento de autoclavagem dos materiais é realizado na sala de lavagem e preparo de materiais, na qual há quatro autoclaves, de tamanhos diferentes (Figura 11). Em relação aos meios de cultura e ágaros, também são preparados nessa mesma sala, seguindo os POPs presentes no local (Figura 12).



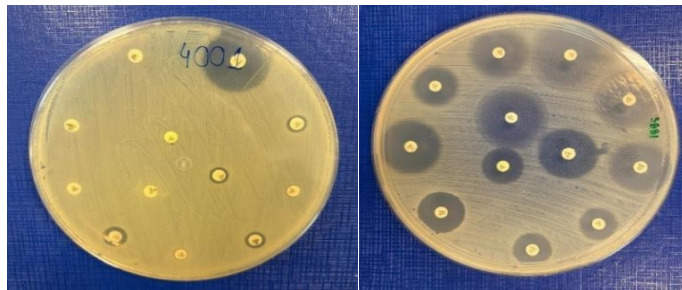
**Figura 11.** Quatro autoclaves presentes na sala de lavagem e preparo de materiais. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 12.** Local de preparo dos meios e pasta com os POPs correspondentes. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Também foi possível acompanhar aulas práticas da graduação direcionadas aos alunos da Medicina Veterinária e da Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, tanto de microbiologia quanto de físico-química (análise de leite, água, salame artesanal e mel). Os estagiários puderam acompanhar a explicação teórica e auxiliar os alunos ao longo da atividade prática, junto ao professor e aos residentes.

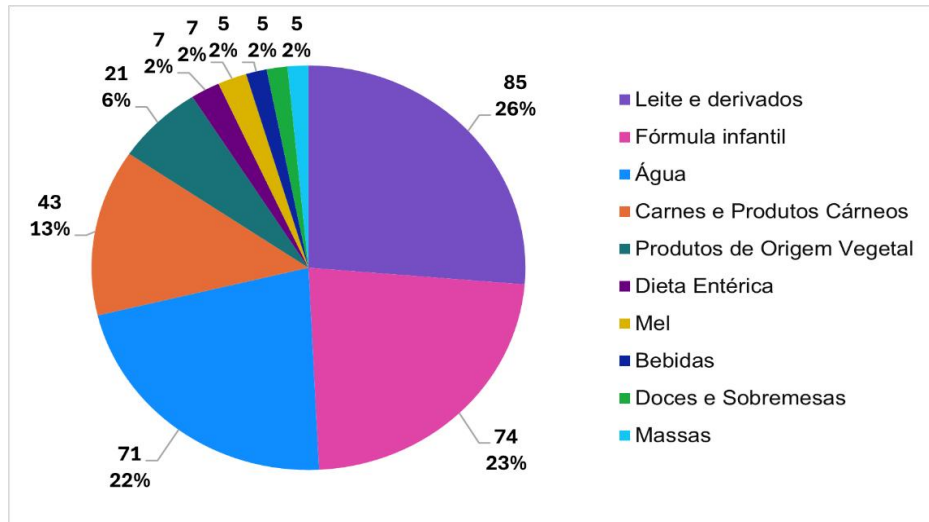
Durante o período, houve auxílio em algumas atividades de mestrandos do laboratório, como a realização de antibiograma (Figura 13) para *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Enterococcus* a partir de amostras coletadas por *swab* de superfícies de aviário e abatedouro de aves. Outro projeto de mestrado que a estagiária pôde ajudar foi no de pesquisa de seis gêneros de microrganismos a partir de amostras de comida japonesa, oriundas de estabelecimentos comerciais de cidades do interior do Estado de São Paulo, auxiliando em todas as etapas da microbiologia e acompanhando o PCR e eletroforese realizados ao final, de alguns isolados bacterianos.



**Figura 13.** Placas de antibiograma para *E. coli*, apresentando resistência à maioria dos antibióticos na placa da esquerda e sensibilidade a todos antibióticos na placa da direita. **Fonte:** fotos cedidas por Gabriella Cazolda, 2025.

Por fim, houve a oportunidade de visitar uma unidade de beneficiamento de mel, na própria cidade de Botucatu, junto ao AFFA que trabalha dentro do prédio do SOAP. A Responsável Técnica (RT) da empresa explicou todo o fluxograma de produção, as atividades diárias realizadas no local e explicou sobre os documentos que a empresa elabora, como os PACs. O AFFA pôde contribuir explicando como funcionaria uma visita oficial ao local, suas observações e condutas.

Ao longo do período de estágio da discente, foi compilado a quantidade e tipos de amostras que chegaram ao local, de 29 de setembro a 14 e novembro de 2025, sendo representados no gráfico da Figura 14, totalizando 323 amostras recebidas.

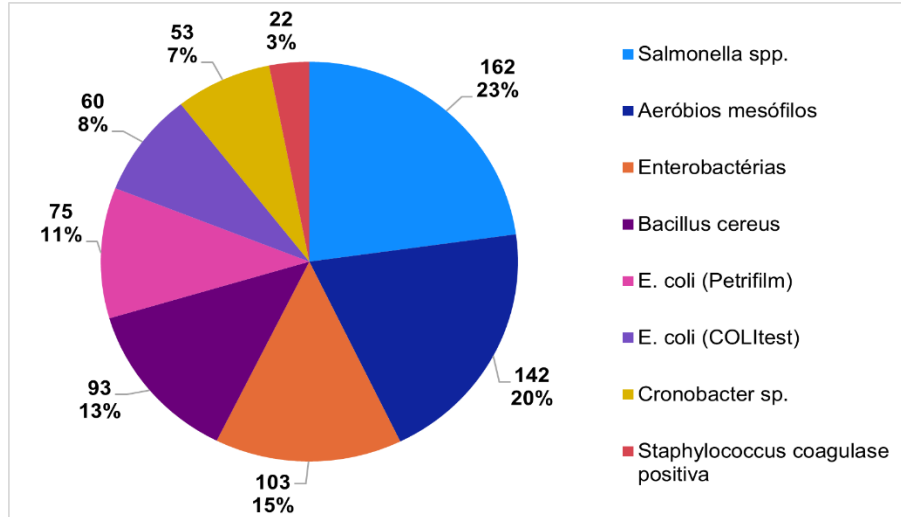


**Figura 14.** Gráfico de pizza representando os tipos e a quantidade de amostras que chegaram ao SOAP no período de 29 de setembro a 14 de novembro de 2025. **Fonte:** elaborado pela autora com dados fornecidos pelo SOAP, 2025.

Pode-se observar que o principal alimento que chegou ao SOAP nesse período foi o leite (humano e de origem animal) e seus derivados, como queijos, atingindo um total de 85 amostras. Em seguida, se destacam as fórmulas infantis, com um total de 74 amostras, pois chegam diariamente ao laboratório, e amostras de água, com um total de 71 amostras.

Na categoria de produtos de origem vegetal se encontram amostras de salada, alho, café torrado e moído e frutas, por exemplo. Oito amostras de mel foram contabilizadas. Nas bebidas, se incluem sucos e preparados sólidos para suco.


Na Figura 15, é possível observar as análises microbiológicas mais realizadas, em quantidade, nesse mesmo período. A análise de pesquisa de *Salmonella spp.* foi a mais realizada no laboratório no período, com um total de 162 análises. Em seguida, se encontra a contagem de aeróbios mesófilos, com 142 análises, contagem de enterobactérias, com 103 análises, e contagem de *Bacillus cereus*, com 93 análises. As análises de coliformes totais e *E. coli* se subdividem em análises em Petrifilm® (75 análises) e por COLItest® (60 análises), realizado em amostras de água. Por fim, se encontra a pesquisa por *Cronobacter*, com 53 análises, e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*, com 22 análises.




**Figura 15.** Gráfico de pizza representando a quantidade das principais análises realizadas no laboratório de microbiologia do SOAP no período de 29 de setembro a 14 de novembro de 2025. **Fonte:** elaborado pela autora com dados fornecidos pelo SOAP, 2025.

**a. Análises microbiológicas**

Inicialmente, ao receber as amostras no laboratório, é preenchida a ficha marcando quais análises serão feitas (Figura 16). Na ficha, é colocado o tipo de amostra, data de entrada, cliente, observações pertinentes e uma etiqueta com o número de identificação e código de barras, sendo que outra etiqueta igual é colocada na embalagem da amostra.

	Serviço de Orientação à Alimentação Pública/FMVZ/UNESP Laboratório de Microbiologia de Alimentos Planilhas, formulários e fichas	Código: FORM02 Página 1 Emissão: 24/05/2023																								
<b>Ficha de acompanhamento de análises microbiológicas</b>																										
Amostra: _____ Data de entrada: _____ Cliente: _____ Observações: _____		Colar etiqueta aqui																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Contagem de aeróbios mesófilos</td> <td style="width: 10%;">Diluição</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Contagem de aeróbios mesófilos	Diluição	Resultado			10 <sup>-1</sup> =				10 <sup>-2</sup> =				10 <sup>-3</sup> =									
<input type="checkbox"/>	Contagem de aeróbios mesófilos	Diluição	Resultado																							
		10 <sup>-1</sup> =																								
		10 <sup>-2</sup> =																								
		10 <sup>-3</sup> =																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Contagem de enterobactérias</td> <td style="width: 10%;">Diluição</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Contagem de enterobactérias	Diluição	Resultado			10 <sup>-1</sup> =				10 <sup>-2</sup> =				10 <sup>-3</sup> =									
<input type="checkbox"/>	Contagem de enterobactérias	Diluição	Resultado																							
		10 <sup>-1</sup> =																								
		10 <sup>-2</sup> =																								
		10 <sup>-3</sup> =																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Contagem de coliformes totais e E. coli (Petrifilm)</td> <td style="width: 10%;">Diluição</td> <td style="width: 10%;">E. coli</td> <td style="width: 10%;">CT (EC + outras)</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td>E. coli =</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td>CT =</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Contagem de coliformes totais e E. coli (Petrifilm)	Diluição	E. coli	CT (EC + outras)	Resultado			10 <sup>-1</sup> =			E. coli =			10 <sup>-2</sup> =			CT =			10 <sup>-3</sup> =			
<input type="checkbox"/>	Contagem de coliformes totais e E. coli (Petrifilm)	Diluição	E. coli	CT (EC + outras)	Resultado																					
		10 <sup>-1</sup> =			E. coli =																					
		10 <sup>-2</sup> =			CT =																					
		10 <sup>-3</sup> =																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Pesquisa de coliformes totais e E. coli (COLIttest)</td> <td style="width: 10%;">Conf. 35°C</td> <td style="width: 10%;">E. coli</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>Colif. 35°C =</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>E. coli =</td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Pesquisa de coliformes totais e E. coli (COLIttest)	Conf. 35°C	E. coli	Resultado					Colif. 35°C =					E. coli =									
<input type="checkbox"/>	Pesquisa de coliformes totais e E. coli (COLIttest)	Conf. 35°C	E. coli	Resultado																						
				Colif. 35°C =																						
				E. coli =																						
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Contagem de Bacillus cereus</td> <td style="width: 10%;">Diluição</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Contagem de Bacillus cereus	Diluição	Resultado			10 <sup>-1</sup> =				10 <sup>-2</sup> =				10 <sup>-3</sup> =									
<input type="checkbox"/>	Contagem de Bacillus cereus	Diluição	Resultado																							
		10 <sup>-1</sup> =																								
		10 <sup>-2</sup> =																								
		10 <sup>-3</sup> =																								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 5%;"><input type="checkbox"/></td> <td style="width: 75%;">Contagem de Clostridium sulfito redutores</td> <td style="width: 10%;">Diluição</td> <td style="width: 10%;">Resultado</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> </tr> </table>			<input type="checkbox"/>	Contagem de Clostridium sulfito redutores	Diluição	Resultado			10 <sup>-1</sup> =				10 <sup>-2</sup> =				10 <sup>-3</sup> =									
<input type="checkbox"/>	Contagem de Clostridium sulfito redutores	Diluição	Resultado																							
		10 <sup>-1</sup> =																								
		10 <sup>-2</sup> =																								
		10 <sup>-3</sup> =																								

	Serviço de Orientação à Alimentação Pública/FMVZ/UNESP Laboratório de Microbiologia de Alimentos Planilhas, formulários e fichas	Código: FORM02 Página 2 Emissão: 24/05/2023																								
<b>Ficha de acompanhamento de análises microbiológicas</b>																										
<input type="checkbox"/> Contagem de Staphylococcus coagulase positiva		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Diluição</th> <th>Tip.</th> <th>Atip.</th> <th>BH</th> <th>Coagulase</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Diluição	Tip.	Atip.	BH	Coagulase	Resultado	10 <sup>-1</sup> =						10 <sup>-2</sup> =						10 <sup>-3</sup> =					
Diluição	Tip.	Atip.	BH	Coagulase	Resultado																					
10 <sup>-1</sup> =																										
10 <sup>-2</sup> =																										
10 <sup>-3</sup> =																										
<input type="checkbox"/> Contagem de bolores e leveduras		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Diluição</th> <th>1ª leitura</th> <th>2ª leitura</th> <th>1ª + 2ª Leitura</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td>10<sup>-1</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>10<sup>-2</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>10<sup>-3</sup> =</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Diluição	1ª leitura	2ª leitura	1ª + 2ª Leitura	Resultado	10 <sup>-1</sup> =					10 <sup>-2</sup> =					10 <sup>-3</sup> =								
Diluição	1ª leitura	2ª leitura	1ª + 2ª Leitura	Resultado																						
10 <sup>-1</sup> =																										
10 <sup>-2</sup> =																										
10 <sup>-3</sup> =																										
<input type="checkbox"/> Pesquisa de Cronobacter		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Placa</th> <th>Bioquímico</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Placa	Bioquímico	Resultado																					
Placa	Bioquímico	Resultado																								
<input type="checkbox"/> Pesquisa de Salmonella spp.		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>XLD<sup>1</sup></th> <th>BS<sup>2</sup></th> <th>LIA</th> <th>TSI</th> <th>IMVIC</th> <th>Soro</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p><small><sup>1</sup> Anotar número de colônias replicadas para LIA/TSI</small></p>	XLD <sup>1</sup>	BS <sup>2</sup>	LIA	TSI	IMVIC	Soro	Resultado																	
XLD <sup>1</sup>	BS <sup>2</sup>	LIA	TSI	IMVIC	Soro	Resultado																				
<input type="checkbox"/> Pesquisa de L. monocytogenes		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Fraser</th> <th>OXA<sup>3</sup></th> <th>PAL<sup>4</sup></th> <th>TSA-YE</th> <th>MOT/SG/BIO</th> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p><small><sup>3</sup> Anotar número de colônias replicadas para TSA/YE</small></p>	Fraser	OXA <sup>3</sup>	PAL <sup>4</sup>	TSA-YE	MOT/SG/BIO	Resultado																		
Fraser	OXA <sup>3</sup>	PAL <sup>4</sup>	TSA-YE	MOT/SG/BIO	Resultado																					
<input type="checkbox"/> Teste de esterilidade		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th>Resultado</th> </tr> <tr> <td></td> </tr> </table>	Resultado																							
Resultado																										
Término de análise Botucatu, ____/____/____		Responsável: _____																								

**Figura 16.** Ficha de acompanhamento de análises microbiológicas do SOAP (FMVZ/UNESP). **Fonte:** arquivo do SOAP, 2025.

Como observado na Figura 16, as análises mais comumente realizadas são de contagem de aeróbios mesófilos (Petrifilm® AC), contagem de enterobactérias (Petrifilm® EB), contagem de coliformes totais e *E. coli* (Petrifilm® EC), pesquisa de coliformes totais e *E. coli* (COLItest®), contagem de *Bacillus cereus* (placa de Petri com ágar BC), contagem de *Clostridium* sulfito redutores (placa de Petri com ágar TSC com gema de ovo), contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (placa de Petri com ágar BP), contagem de bolores e leveduras (Petrifilm® YM), pesquisa de *Cronobacter* (meio APT, meio LM e placa de Petri com ágar CRONO), pesquisa de *Salmonella spp.* (meio APT, meio RV e TT, placa de Petri com ágar XLD e BS e tubo inclinado com ágar TSI e LIA) e pesquisa de *Listeria monocytogenes* (meio LEB, meio Fraser e placa de Petri com ágar OXA e ALOA), além do teste de esterilidade comercial.

Três produtos que chegam com muita frequência no SOAP, para análise microbiológica, são as fórmulas infantis (que chegam diariamente), fornecidas para recém-nascidos ou bebês; amostras de leite humano de bancos de leite de hospital; e amostras de água de diversas procedências (tratada, filtrada, de torneira de área de manipulação, bebedouro, poço artesiano não tratada, entre outras).

No caso das fórmulas infantis em pó (Figura 17), segundo a IN da ANVISA nº 161, de 1º de julho de 2022, que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, as análises que devem ser feitas são de presença de *Salmonella*/25g, contagem de *Bacillus cereus* presuntivo/g, contagem de *Enterobacteriaceae*/10g e contagem de aeróbios mesófilos/g, com adição de pesquisa de *Cronobacter spp.*/10g quando direcionadas a crianças de até seis meses de idade (classificadas como fórmulas tipo A, no laboratório).



**Figura 17.** Frasco com amostra de fórmula infantil diluída recebida diariamente no SOAP, com o adesivo de identificação interna do laboratório. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

No leite humano, já pasteurizado, é realizada a pesquisa de presença de coliformes totais, utilizando o caldo VB a 5% em um tubo de ensaio com um tubo de Durham dentro (Figura 18), com sua extremidade aberta voltada para baixo. No tubo de ensaio, são colocados 10 mL de caldo VB, sendo destinados diretamente ao banco de leite. Lá no local é adicionado 4 mL de leite em cada tubo. Ao retornarem para o laboratório, os tubos são incubados a uma temperatura de 36 °C por 24 horas.



**Figura 18.** Tubo de ensaio com caldo VB e tubo de Durham dentro à esquerda e, à direita, tubos de Durham. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Nessa análise, caso o tubo de Durham fique preenchido por pelo menos 2/3 de gás (Figura 19), é resultado presuntivo de que tenha coliformes totais na amostra. Para confirmação, é realizada a transferência de 0,1 mL do tubo presuntivo para outro tubo com caldo VB em concentração de 4% e tubo de Durham. Após incubação dos tubos confirmatórios, a 36 °C por 24 horas, observa-se quais foram confirmados conforme a produção de gás, igualmente da primeira etapa.



**Figura 19.** Tubo de Durham, à esquerda, com gás na sua parte interna, indicando presença de coliformes totais na amostra. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Já no caso de amostras de água, comumente se realiza pesquisa de coliformes e *E. coli* por meio do COLItest®. São coletados 100 mL de água em um recipiente plástico com uma pastilha que inativa o cloro (tiosulfato de sódio). Já no laboratório, esse recipiente deve ser higienizado externamente com álcool 70% e agitado para homogeneizar a amostra. Depois, um sachê do COLItest® (Figura 20) é adicionado ao frasco, realizando agitação novamente e colocando-o na estufa a 36 °C por 48h.



**Figura 20.** Sachês de COLItest® para detecção de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Caso a amostra altere sua coloração de roxo para amarelo (Figura 21), com turbidez, há presença de coliformes totais. Para confirmação de presença de *E. coli* na amostra, é possível realizar outros dois testes, o de Indol ou de fluorescência.



**Figura 21.** Frascos com amostras de água após adição do COLItest® e permanência por 48h em estufa a 36 °C, evidenciando a ausência de coliformes, à esquerda, e a presença de coliformes, à direita. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Na prova de Indol é realizada a adição de 3 a 5 gotas de reativo de Kovacs em um tubo com a amostra, ocorrendo formação de um halo vermelho (Figura 22) caso seja positivo para *E. coli*. Já com a utilização de lâmpada ultravioleta (365nm) incidindo no frasco com a amostra, caso apresente fluorescência azul (Figura 23) a amostra é positiva para *E. coli*.



**Figura 22.** Frasco de Reativo de Kovacs, à esquerda, e tubo com amostra de água após utilização do reativo e formação de halo vermelho, à direita. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 23.** Teste de fluorescência em amostra de água, confirmando a presença de *E. coli* devido à fluorescência azul ao incidir a luz da lâmpada na amostra. À direita, a estagiária Beatriz Pareschi Botelho realiza o teste de fluorescência. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Tabela 1.** Principais análises FQ realizadas no SOAP em amostras de leite pasteurizado, água, mel e produtos cárneos.

<b>LEITE pasteurizado</b>	<b>ÁGUA</b>	<b>MEL</b>
Acidez Dornic	Sensorial (cor, odor e aspecto)	Reação de Fiehe
Gordura	Cloro residual livre (CRL) - tratada	Prova de Lund
Peroxidase	Nitrogênio amoniacal	Umidade
Fosfatase alcalina	pH	Pesquisa de diastase
Cloro	Matéria orgânica – não tratada	HMF
Formol	Dureza total	Acidez
Água oxigenada	Turbidez	Reação de lugol
Crioscopia		
Densidade		
Volumetria		
Sólidos totais (ST)		
Sólidos não gordurosos (SNG)		
<b>PRODUTOS CÁRNEOS</b>		
Sensorial (cor, odor, aspecto, consistência)		
Proteína		
Gordura		
pH		
Pesquisa de gás sulfídrico (H <sub>2</sub> S)		
Prova de Éber (pesquisa de amônia)		
Nitrito (embutidos)		
Nitrato (embutidos)		

**Fonte:** elaborado pela autora com dados da casuística fornecidos pelo SOAP e registros da discente ao longo do período de estágio, 2025.

As fórmulas infantis, que chegam diariamente, seguem para análise físico-química também, além da microbiológica, para quantificação de acidez Dornic. Para a análise, são adicionados 10 mL de fórmula em um

copo plástico junto de 3 a 5 gotas de fenolftaleína a 1% (substância indicadora de pH). Então, é adicionada solução Dornic - NaOH, gota por gota, até ocorrer viragem de cor para rosa claro (titulação), sendo que a cada 0,1 mL da solução Dornic corresponde a 0,01 g de ácido láctico por 100 mL ou a 1 °D. Não há parâmetro para acidez para fórmulas infantis em legislação.

Ademais, três vezes por semana chegam, aproximadamente, trinta amostras de leite humano ordenhado de banco de leite, para análises de acidez Dornic e crematócrito.

Para a análise de acidez são adicionados 2 mL do leite em um copo plástico e 3 a 5 gotas de fenolftaleína a 1%, com adição de 8 mL de água destilada (Figura 25). Após, é realizada a titulação com a solução Dornic, gota a gota, até a viragem de cor para rosa claro (Figura 26). Nesse caso, é realizada uma conversão, sendo que cada gota de solução Dornic despejada corresponde a um valor de 2,5 °D. O parâmetro aceitável de acidez para leite humano, segundo a RDC/ANVISA nº 171, de 04 de setembro de 2006, é menor ou igual a 8 °D.

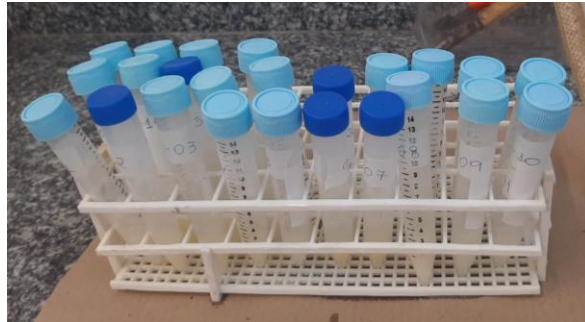


**Figura 25.** Vinte e cinco amostras de leite humano nos copinhos plásticos, junto de fenolftaleína a 1% e água destilada, para realização da análise de acidez Dornic. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 26.** Realização da titulação com solução Dornic, à esquerda, e mudança de cor do leite de branco para rósea, à direita. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Já para a análise de crematócrito, que se refere ao conteúdo energético do leite, as amostras chegam em tubos de ensaio (Figura 27), que devem ser aquecidos em banho-maria a 40 °C por 5 minutos. Após, é realizada a coleta de cada uma das amostras por meio de tubo capilar, que deve ser vedado em uma de suas extremidades utilizando o bico de Bunsen (Figura 28).

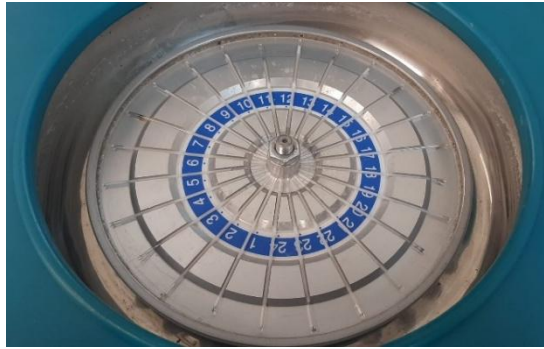


**Figura 27.** Amostras de leite humano prontas para serem aquecidas no banho-maria. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 28.** À esquerda, realização da coleta da amostra por meio de tubo capilar e, à direita, vedação do tubo capilar com auxílio do bico de Bunsen. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Em seguida, os capilares são colocados em centrífuga própria, posicionando as extremidades vedadas na direção da força centrífuga (Figura 29). Após tampar a centrífuga, realizar a centrifugação por 5 minutos a uma velocidade de 10000 rpm (Figura 30), seguindo para a leitura.

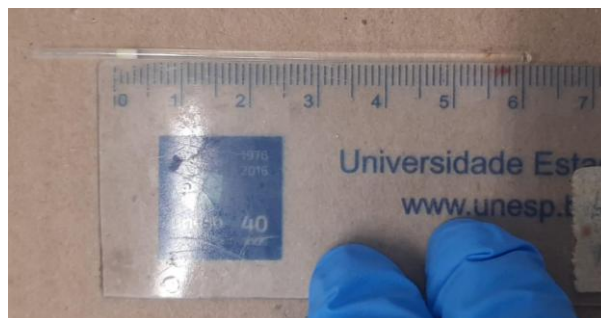


**Figura 29.** Capilares posicionados com a extremidade vedada para a parte externa do aparelho de centrifugar. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 30.** Centrífuga utilizada para a centrifugação do leite humano. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Os capilares estarão divididos em duas porções, uma coluna de creme (branca) e uma de soro (translúcida). Deve-se utilizar uma régua milimetrada para medir a coluna de creme e a coluna total (creme + soro) (Figura 31). Esses valores serão colocados em um sistema informatizado, que fará os cálculos para determinação da porcentagem de creme e do teor de gordura (Kcal/litro) de cada amostra. O parâmetro aceitável de crematócrito é maior ou igual a 250 Kcal/L (Brasil, 2006).



**Figura 31.** Leitura da coluna de creme e da coluna total (creme + soro) no tubo de capilar por meio de régua milimetrada. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

## **4. Discussão das Atividades Desenvolvidas**

### **4.1. Zanchetta Alimentos Ltda.**

Durante o período de estágio na Zanchetta Alimentos Ltda., a discente pôde desenvolver uma visão mais realista e ampla do funcionamento de uma indústria de alimentos de origem animal, mais especificamente de abate e processamento de bovinos. Acompanhar o monitoramento dos processos dentro da produção, assim como as ações corretivas e preventivas e suas verificações, foi muito proveitoso, uma vez que o funcionamento dessa dinâmica na realidade ainda se fazia abstrata antes do estágio.

Acompanhar todo o processo de produção, desde o embarque dos animais na propriedade até a expedição do produto acabado, aumentou o interesse da discente pela área, vendo sentido e importância em cada pequena etapa. Na visita à propriedade, foi possível avaliar a condição dos animais antes do embarque e dos demais animais da propriedade, como solo que andam, disponibilidade de água fresca, alimento utilizado e manejo. Durante o embarque, questões relacionadas ao bem-estar são avaliadas, como quedas, uso de choque e colisões, tudo que pode levar a possíveis hematomas na carcaça, observados ao final do abate.

A parte do BEA foi de grande interesse pela discente, área que é essencial para manter a dignidade do animal antes de seu abate, assim como garantir um produto de qualidade aos consumidores e não gerar tantas perdas econômicas para a indústria ou para os produtores.

Já o setor de abate, também se fez muito interessante, pois é possível observar todo o fluxograma de abate, composto por diversos processos diferentes e que podem impactar na qualidade da carcaça. Observar um pouco da atuação dos agentes do SIF dentro da sala de abate, avaliando a carcaça, cabeça e órgãos e dando a destinação adequada aos produtos (seguir na linha; ir para tratamento a frio; tratamento por calor – conserva; ou condenado à graxaria) também foi muito interessante e evidencia a importância do serviço de inspeção dentro de um frigorífico.

#### **4.2 Serviço de Orientação à Alimentação Pública (SOAP), da FMVZ /UNESP**

O estágio na área laboratorial de inspeção sanitária de alimentos foi muito enriquecedor para a discente, aprofundando conhecimentos adquiridos durante a graduação. Foi possível expandir a experiência da discente em relação às boas práticas laboratoriais e às análises microbiológicas e físico-químicas em alimentos, além de fazer conexão com as legislações vigentes que determinam o que é aceitável ou não em relação ao laudo das análises, de acordo com o tipo de alimento.

Poder acompanhar todo o processo dentro do laboratório, desde a recepção e registro da amostra, no sistema, até a emissão do laudo, permitiu uma aprendizagem de qualidade.

Também, a visita técnica realizada à unidade de beneficiamento de mel permitiu conhecer um pouco mais do funcionamento dessa cadeia e das atividades da RT do local, além de entender como seria a atuação de um AFFA realizando uma visita oficial ao local.

A área de análises laboratoriais é essencial para comprovar a qualidade microbiológica e o padrão físico-químico dos produtos que estão sendo fornecidos para consumo para a população, ou identificar erros que devem ser corrigidos, sempre com base em legislação vigente. Também foi importante para fixar melhor os conhecimentos acerca dos microrganismos de importância em alimentos, segundo suas classificações, tipos de alimentos em que comumente se multiplicam, temperatura de crescimento etc.

A variedade de alimentos recebidos no local também foi muito além do esperado pela discente, incluindo alimentos de origem animal destinados ao consumo humano, saladas, macarrão, cereal, óleo vegetal, petiscos de origem animal destinados ao consumo pet, água de poços e torneiras etc., evidenciando a importância de tais análises em qualquer âmbito e espécie que irá consumir o produto e a amplitude em que essas técnicas laboratoriais podem ser aplicadas, pensando sempre na garantia da qualidade e segurança alimentar.

## 5. Considerações Finais

O estágio curricular obrigatório em prática veterinária foi um período essencial para a formação da discente, de forma a permitir observar na prática diversos conhecimentos teóricos adquiridos em sala de aula, podendo fixá-los e compreendê-los melhor. Também foi importante para se desenvolver profissional e pessoalmente, vivenciando um pouco do mercado de trabalho e dos desafios práticos das atividades e das relações interpessoais, além de aumentar o *networking*.

Ambos os locais de estágio possibilitaram à estagiária acompanhar diversas atividades, não se limitando a um único setor ou procedimento, podendo ter uma compreensão ampla e integrada do funcionamento de uma indústria de abate e processamento de bovinos e de um laboratório de análise de alimentos.

Os dois locais englobam a área de atuação de médicos veterinários em alimentos, seja no controle e garantia da qualidade ou na inspeção sanitária, atuando em laboratório, áreas de interesse da discente, que no fim objetivam levar à população alimentos de qualidade e seguros de serem consumidos.

Por fim, o período de estágio trouxe mais experiência e responsabilidade, tornando a discente mais capacitada para atuar no mercado de trabalho.

## II. Monografia

### **Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em amostras de *sushi* coletadas de cidades do interior de São Paulo, Brasil**

#### 1. Introdução

A culinária japonesa tem se popularizado cada vez mais no Brasil, com destaque para o Estado de São Paulo, de forma que o gasto com produtos da categoria asiática no “food service” nacional ultrapassou R\$ 2 bilhões no período de julho de 2024 a junho de 2025, representando um aumento de 9% em relação ao mesmo período do ano anterior (Food Biz Brasil, 2025).

Segundo Mori (2003), em 2003 existiam mais de 600 restaurantes japoneses na cidade de São Paulo, ultrapassando o número de churrascarias. Muito se deve à busca da população por alimentos considerados saudáveis e naturais e à influência da mídia e da internet, colocando a culinária japonesa em destaque na atualidade brasileira e paulista (Mori, 2003; Ribeiro e Paolucci, 2006).

Nesse sentido, é necessário destacar a importância das doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), as quais são causadas pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados, seja por bactérias e suas toxinas, vírus, parasitas intestinais oportunistas ou substâncias químicas, de forma que existem mais de 250 tipos de DTHA no mundo (Brasil, 2025).

Uma vez que a culinária japonesa apresenta diversas opções de pratos com alimentos crus, sejam salada ou peixes, a qualidade da matéria prima, a manipulação e o armazenamento adequados dos alimentos e a higiene dos manipuladores e do ambiente de produção são essenciais para a prevenção de DTHA e manutenção da qualidade do produto (Brasil, 2025; Pinto et al., 2010).

Uma das DTHA de destaque na saúde pública, principalmente pensando em alimentos que não passaram por tratamento térmico e são vendidos prontos para consumo, é a listeriose, causada pela bactéria *Listeria monocytogenes* (Silva et al., 2017). A listeriose pode causar doença não invasiva, com sintomas comuns de gastroenterite, mas se torna mais severa se for invasiva, causando septicemia, meningite e até óbito (Silva et al., 2021).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo descrever a técnica de pesquisa de presença/ausência de *Listeria monocytogenes*, acompanhada pela discente durante o estágio, a partir de amostras de *sushi*, prontas para consumo, coletadas de cidades do interior de São Paulo, obtidas de restaurantes e supermercados.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Culinária japonesa no Estado de São Paulo**

O Estado de São Paulo e, principalmente, sua Capital são locais de grande diversidade de povos e culturas, refletindo na culinária, devido à própria formação histórica e reunião de indígenas, negros e diversos imigrantes (Mori, 2003). Com a chegada do navio Kasato-Maru, em 1908, os primeiros imigrantes japoneses chegavam ao Brasil, pelo Porto de Santos (Bitelli, Cronis e Yamaguchi, 2018).

Inicialmente, a culinária japonesa era consumida exclusivamente pelo grupo étnico japonês, porém, na década de 70, começaram a surgir restaurantes japoneses na região da Avenida Paulista, em São Paulo, o que favoreceu o aumento no consumo desse tipo de culinária pela população brasileira (Mori, 2003).

Com os novos hábitos alimentares da população mundial na década de 80, inclusive brasileira, buscava-se comidas consideradas mais saudáveis e naturais, devido à conscientização sobre doenças decorrentes do sedentarismo, como hipertensão e obesidade (Mori, 2003). Nesse contexto, a comida japonesa ganhou mais destaque, uma vez que é composta por poucas frituras e alimentos gordurosos, trazendo pratos com alimentos considerados frescos e leves, como peixes, verduras e legumes, e em pequenas porções (Bitelli, Cronis e Yamaguchi, 2018; Ribeiro e Paolucci, 2006).

Outro ponto interessante, é a quantidade crescente de brasileiros não descendentes de japoneses buscando empreender em restaurantes japoneses ou trabalhando como funcionários e cozinheiros nesses locais, a partir da década de 80, fator que favoreceu o “abrasileiramento” da cozinha japonesa, não se prendendo tanto às tradições culturais, mas se

moldando ao gosto dos brasileiros, o que facilitou a entrada desses pratos nas refeições da população (Mori, 2003).

Além dos pontos trazidos, vale destacar que a mídia e a internet têm grande papel na disseminação de ideias e em ditar “modas”, influenciando a população a consumir determinados alimentos e frequentar determinados restaurantes (Ribeiro e Paolucci, 2006).

## **2.2 Doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA)**

Segundo a Organização Mundial da Saúde, estima-se que, em 2010, houve 600 milhões de casos de pessoas doentes devido a DTHA, resultando em 420 mil mortes no mundo.

Porém, muitas vezes os agentes etiológicos ou o alimento contaminado não são descobertos. No Brasil, entre surtos notificados no período de 2016 a 2019, apenas 541 dos 2.504 casos (21,6%) tiveram os agentes etiológicos identificados (Brasil, 2020).

Os surtos são classificados como eventos em que duas ou mais pessoas apresentam sinais e sintomas semelhantes após a ingestão de alimentos e/ou água de mesma origem, com exceção de botulismo e cólera, doenças de alta gravidade, em que a confirmação de apenas um caso já é classificado como surto (Brasil, 2021).

Em relação aos sinais e sintomas, não há um padrão específico, pois irá depender do agente etiológico envolvido, porém, de forma geral, são sintomas gastrointestinais, envolvendo náusea, vômito, dor abdominal, diarreia, falta de apetite e febre (Brasil, 2025). Em outros casos, pode atingir outros órgãos e sistemas, como os rins, sistema nervoso central, entre outros (Brasil, 2025).

Existem três classificações para as DTHA, as infecções, toxinfecções e intoxicações. As infecções ocorrem devido à ingestão do microrganismo patogênico, que irá se multiplicar no organismo do hospedeiro; as toxinfecções se devem, também, à ingestão de microrganismos patogênicos, porém estes irão se multiplicar e liberar toxinas dentro do organismo do hospedeiro; e as intoxicações, que se caracterizam pela ingestão de toxinas formadas no alimento, pelos microrganismos (Brasil, 2010).

Algumas das dificuldades enfrentadas pelo sistema de vigilância de surtos, são a falta de conhecimento dos consumidores sobre as DTHA e a falha na identificação do alimento que possa ter causado mal, pelo próprio consumidor, pois muitas vezes as pessoas associam alimentos que apresentam mau cheiro e aparência modificada às DTHA, porém essas mudanças de aparência e odor ocorrem, normalmente, devido a microrganismos deteriorantes, não necessariamente patogênicos (Forsythe, 2013).

Além disso, como parte dessas doenças é autolimitante com sintomas brandos gastrointestinais, muitas pessoas não procuram atendimento médico e, as que procuram, muitas vezes não se tornam casos investigados, também por falta de notificação às autoridades por parte dos médicos (Forsythe, 2013).

Pensando na prevenção, controle e redução dos riscos de surtos de DTHA, é importante que haja investimento público destinado à melhoria da infraestrutura dos serviços de saneamento básico e que haja conscientização da população e de manipuladores de alimentos sobre práticas de higiene pessoal e coletiva e manejo adequado de alimentos para consumo, como higienização adequada de hortaliças (frutas, legumes e vegetais), consumo de carnes bem cozidas/assadas e constante lavagem das mãos com água limpa e sabão, principalmente antes e após manusear os alimentos (Brasil, 2021).

### **2.3 *Listeria spp.* e listeriose**

A *Listeria spp.* é uma bactéria de bacilos, Gram positiva, não formadora de esporos, móvel por meio de flagelos, tendo como temperatura ótima de crescimento entre 30 e 37 °C, caracterizada como mesófila, porém sendo capaz de se multiplicar entre temperatura de refrigeração e até 45 °C, o que confere ao gênero características psicrótróficas (Forsythe, 2013; Silva et al., 2021). Produzem ácido, mas não gás, a partir da glicose e outros carboidratos, são catalase positivas, anaeróbias facultativas e se multiplicam a partir de um meio contendo carboidrato (Silva et al., 2021).

Apenas duas espécies são consideradas patogênicas, a *L. monocytogenes*, que atinge humanos e outros animais, e a *L. ivanovii*, que atinge principalmente animais e raramente humanos (Orsi e Wiedmann, 2009; Prates, 2010). Seu hábitat natural é diverso, podendo estar presente no solo, água, vegetação em decomposição, esgoto e trato gastrointestinal de humanos e outros animais saudáveis (Forsythe, 2013).

Além de suas características psicrotróficas e resistência aos processos de congelamento e descongelamento, elas são capazes de formar biofilmes, se tornando um problema para a indústria e serviços de alimentação, uma vez que a higienização de superfícies não é realizada de forma adequada (Somers e Wong, 2004). Por outro lado, são eliminadas dos alimentos que sofrem pasteurização, mas em alimentos produzidos sem tratamento térmico e/ou com muita manipulação sua presença é um risco (Silva e Ribeiro, 2021).

Entre os alimentos associados à transmissão de *Listeria monocytogenes*, encontra-se leite cru, leite pasteurizado inadequadamente, queijos, sorvetes, vegetais crus, carnes cruas, peixes crus, frutos do mar e alimentos manipulados prontos para consumo (Franco e Landgraf, 1996; Silva et al., 2021), sendo estes últimos cada vez mais frequentes na alimentação da população, devido à sua praticidade (Silva et al., 2017).

Os primeiros relatos de infecção alimentar por *L. monocytogenes* datam da década de 80, em que surtos ocorreram no Canadá, devido a uma salada de repolho, e nos EUA, devido a um leite pasteurizado, envolvendo 49 pessoas e resultando em taxa de mortalidade de 29% (Franco e Landgraf, 1996).

A listeriose é causada pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados por *Listeria monocytogenes* (Ramires et al., 2021). A doença se manifesta de duas formas, a não invasiva e a invasiva, sendo que a primeira causa uma gastroenterite autolimitante, podendo ocorrer febre, mal-estar, náusea, vômito, dores abdominais e diarreia (Prates, 2010).

Porém, a forma invasiva, que ocorre quando a infecção atinge a corrente sanguínea, é bem mais grave, podendo atingir outros órgãos e sistemas, como o sistema nervoso central e a placenta, levando à

septicemia, meningite e encefalite, abortos, parto prematuro ou bebês natimortos, podendo atingir 30% de taxa de mortalidade (Franco e Landgraf, 1996). Os indivíduos mais atingidos pela forma invasiva são os considerados do grupo de risco, que engloba grávidas e seus fetos ou recém-nascidos, indivíduos com o sistema imune comprometido e idosos (Ramires et al., 2021).

O período de incubação pode variar de poucas horas a três dias na forma não invasiva e três dias a três meses na forma invasiva, já a duração da doença varia de dias a semanas (Souza et al., 2021).

Como tratamento, normalmente são utilizados antibióticos como penicilina, ampicilina (juntas ou isoladas), cloranfenicol, eritromicina, enrofloxacino, lincomicina, noseptida, rifampicina, salinomocina, tetraciclina, vancomicina e virginiamicina (Silva e Ribeiro, 2021).

Segundo Banco de dados de surto de DTHA de 2000 a 2023, disponibilizado pelo Ministério da saúde (Brasil, 2025), há apenas quatro surtos registrados causados por *Listeria monocytogenes*, distribuídos entre os anos de 2007, 2009, 2021 e 2023, com 4 óbitos no surto de 2021, como observado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Distribuição temporal e regional de surtos de DTHA causados por *Listeria monocytogenes* entre os anos de 2000 e 2003, no Brasil, com alimento causador, número de expostos, doentes e óbitos.

Ano notificação	UF	Alimento causador	Local de ocorrência	Nº casos expostos	Nº doentes	Nº Óbitos
2007	RS	Produtos cárneos embutidos	Residência	2	2	0
2009	RS	Ovos e produto à base de ovos	Outros	120	17	0
2021	RJ	Ignorado	Hospital / unidade de saúde	9	9	4
2023	MG	Carne bovina <i>in natura</i>	Residência	7	7	0

**Fonte:** elaborado pela autora com dados divulgados pelo Ministério da Saúde, Brasil, 2025.

Porém, esse baixo número de surtos notificados pode ser devido ao subdiagnóstico e à subnotificação, em decorrência de essa doença não ser de notificação compulsória, muitos laboratórios de saúde pública não realizarem a pesquisa de *Listeria spp.* em amostras clínicas ou de alimentos e muitos médicos não darem a devida importância para este patógeno (Destro, 2006). Além disso, as investigações de surtos são mais comumente realizadas quando envolvem grande número de pessoas (Destro, 2006).

Segundo trabalho desenvolvido por Silva et al. (2017), foram analisadas para *L. monocytogenes* 67 amostras de alimentos prontos para consumo, oriundas de restaurantes e estabelecimentos dos municípios do Rio de Janeiro e de Niterói, do estado do Rio de Janeiro, no período de abril a junho de 2016, tendo como resultado 14 (20,9%) amostras contaminadas pela bactéria, sendo oito de queijo tipo minas frescal, quatro de saladas e duas de alimentos provenientes da culinária japonesa.

Já Montanari et al. (2015), analisaram 15 amostras de *sashimi* de salmão *in natura*, coletados da cidade de Ji-Paraná (RO), sendo cinco amostras de três estabelecimentos diferentes. Na pesquisa de *L. monocytogenes*, encontraram a presença em dois dos três estabelecimentos avaliados. Esses dois estudos citados evidenciam que não é difícil encontrar *Listeria spp.* em alimentos manipulados prontos para consumo no Brasil, apesar de não haver tantos surtos relatados por órgãos oficiais, e que os serviços de alimentação precisam revisar e/ou implementar programas de autocontrole, executando o controle de qualidade de seus produtos.

A IN nº 161 de 1º de julho de 2022, MS/ANVISA, estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, porém nela exclui-se a necessidade de pesquisa regular de *Listeria monocytogenes* de alimentos que têm prazo de validade menor do que 5 dias, que seria o caso de *sushi* prontos para consumo em restaurantes e supermercados. Além disso, na categoria de alimentos preparados prontos para consumo, contendo produtos de origem animal, elaborados sem emprego de calor e consumidos crus, que seria o caso do *sushi*, é exigida a pesquisa somente

de *Salmonella*/25g, *Staphylococcus* coagulase positiva/g e *Escherichia coli*/g.

A única exigência de padrão microbiológico de *Listeria monocytogenes* se aplica a alimentos prontos para consumo, normalmente vindos da indústria, não manipulados em serviços de alimentação, em que deve ser coletada 5 amostras do mesmo lote de produção, de forma que nenhuma resulte em valores acima de  $1.10^2$  UFC/g ou mL, ou seja 100 UFC/g ou mL. Caso esses alimentos sejam destinados à lactentes ou para fins especiais, de 10 amostras coletadas, todas devem ser ausentes para *Listeria monocytogenes*/25g.

Segundo Forsythe (2013), algumas medidas a serem tomadas como prevenção da infecção por *L. monocytogenes* são o tratamento térmico do alimento, controle de fornecedores e boas práticas de higiene durante a produção, o processamento e armazenamento, a distribuição e o preparo dos alimentos.

## 2.4 Formação de biofilme

Alguns microrganismos possuem a capacidade de formar biofilmes, como é o caso da *L. monocytogenes* (Souza et al., 2021). Os biofilmes são uma comunidade complexa de microrganismos que se formam a partir da aderência a uma superfície e iniciam a secreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), também chamadas de glicocálice, as quais intensificam a fixação ao ambiente e de uma bactéria à outra e acabam promovendo certa proteção às bactérias, que se tornam mais resistentes ao ambiente, aos desinfetantes e aos antibióticos, dificultando sua remoção e favorecendo sua persistência no ambiente (Forsythe, 2013; Tortora et al., 2025). Superfícies ásperas e rugosas favorecem a aderência inicial das bactérias, assim como a presença de matéria orgânica, que não foi removida totalmente após um processo de higienização (Forsythe, 2013; Tortora et al., 2025).

Essa questão é de grande importância na indústria de alimentos, uma vez que falhas na higienização de superfícies propicia a formação de biofilmes, tornando cada vez mais difícil sua remoção e promovendo uma

fonte persistente de contaminação, além de contribuir para a corrosão de metais (Forsythe, 2013).

O microrganismo tem a capacidade de se aderir em superfícies de diversos materiais, como aço inoxidável, poliestireno, polipropileno e vidro, favorecendo a contaminação cruzada e a recontaminação de produtos prontos (Silva e Ribeiro, 2021; Souza et al., 2021).

Outro ponto importante é a utilização correta dos produtos desinfetantes, seguindo as recomendações do fabricante, uma vez que, segundo estudos, a exposição da *L. monocytogenes* a concentrações subinibitórias de desinfetantes, baseados em amônia quaternária, pode favorecer a formação de biofilmes (Toro et al., 2022).

Nesse complexo agregado de biofilme, as bactérias também se tornam mais resistentes a antibióticos, se tornando uma preocupação caso contamine o alimento durante o processo de produção e, posteriormente, infecte uma pessoa (Mazaheri et al., 2021). Um estudo desenvolvido por Conter et al. (2009), avaliou a suscetibilidade de 120 cepas de *Listeria monocytogenes* isoladas de alimentos e ambientes de processamento de alimentos a 19 antibióticos comumente utilizados em tratamentos veterinários e humanos.

Como resultado, observou-se que 14 (11,7%) apresentaram resistência a pelo menos um antibiótico, sendo mais comum o resultado de resistência a apenas um antibiótico do que a resistência múltipla. Dentre esses 14, 10 apresentaram resistência a apenas um antibiótico, três, a dois antibióticos, e um, a cinco antibióticos. A resistência à clindamicina foi a mais comum.

É importante que estudos contínuos relativos à resistência antimicrobiana de *L. monocytogenes* sejam desenvolvidos, para garantir o tratamento correto e efetivo da listeriose em humanos, uma vez que este microrganismo está se tornando, aos poucos, resistente a antibióticos (Conter et al., 2009).

## **2.5 Garantia da qualidade (GQ) e boas práticas de manipulação (BPM)**

Pensando em serviços de alimentação e estabelecimentos comerciais de alimentos, como os locais de coleta das amostras da pesquisa relatada, é importante que instaurem PACs que incluam a higienização (limpeza e desinfecção) do ambiente e superfícies e as boas práticas de manipulação, seguindo legislações, como a RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004, do MS/ANVISA, que dispõe sobre o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. Com base nele, é possível direcionar melhor as ações dos funcionários para que os produtos cheguem aos consumidores com qualidade e com segurança.

Dentre as normas descritas na RDC nº 216 (Brasil, 2004), encontram-se formas de prevenir as DTHA pensando no ambiente; nos manipuladores; e na matéria-prima, que seriam a higienização correta e frequente das instalações, equipamentos, móveis e utensílios, por profissional capacitado e sempre que necessário, inclusive logo após o término do trabalho; a higienização correta das mãos dos manipuladores de alimentos, sempre antes e após manipular os alimentos; e a inspeção de toda matéria-prima, ingredientes e embalagens que chegam ao estabelecimento, verificando integridade das embalagens, temperatura dos produtos, identificação e prazo de validade, aprovando ou não sua entrada.

Segundo Silva e Ribeiro (2021), a contaminação dos alimentos ocorre, principalmente, devido a práticas inadequadas de manipulação e à ausência de controle higiênico-sanitário nas indústrias de processamento de produtos de origem animal e em estabelecimentos varejistas.

Dessa forma, deve-se intensificar a ação dos órgãos fiscalizadores junto às indústrias de origem animal, as quais devem implementar e seguir seus próprios PACs e manuais de boas práticas de fabricação, para de fato executar o controle de qualidade de seus processos e produtos, garantindo que os alimentos produzidos estejam livres de patógenos como a *L. monocytogenes* (Silva e Ribeiro, 2021).

Diversas ferramentas podem ser implementadas na indústria, pensando na garantia da qualidade, como PACs, PPHO e BPF, compondo

o sistema de APPCC, além de uma rotina de análises microbiológicas, que irá servir como monitoração da efetividade dos PACs. Porém, a ação de órgãos de fiscalização, como o MAPA e a VISA, deve ser intensificada na indústria e nos serviços de alimentação, uma vez que a falta de fiscalização pode contribuir com a não adesão dos PACs pelas empresas (Souza et al., 2021).

### 3. Caso de interesse

Durante o período de estágio da discente na FMVZ/UNESP, foi possível acompanhar e auxiliar em parte de uma pesquisa desenvolvida no SOAP por um pós-graduando de Mestrado. No projeto de pesquisa, o mestrando busca analisar, no quesito microbiológico, amostras de *sushi*, prontas para consumo, vendidas em estabelecimentos como restaurantes e supermercados, no interior do Estado de São Paulo. Com isso, busca-se entender os riscos microbiológicos para os consumidores desses alimentos, que em sua maioria são consumidos crus.

Para tanto, foi realizada a coleta de 200 amostras de *sushi*, prontos para consumo, de 120 gramas cada, de diversos estabelecimentos e cidades. Essa quantidade coletada em gramas, por amostra, se deve à necessidade de 25 gramas para colocar em meio APT, para análise de *Salmonella spp.*, 25 gramas para colocar em meio LEB, para análise de *Listeria spp.* e 25 gramas para diluição em solução salina, para outras análises, sobrando amostra para contraprova.

Já no laboratório de microbiologia do SOAP, foram realizados todos os passos para contagem e pesquisa de seis bactérias: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium spp.*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Bacillus cereus*. Além disso, os isolados bacterianos, obtidos das análises microbiológicas, passarão por confirmação molecular do gênero ou espécie, por meio de PCR e eletroforese. O mestrando também irá, posteriormente, realizar a detecção molecular de vírus nas amostras.

Para o trabalho em questão, foi escolhida a metodologia de pesquisa microbiológica de presença/ausência de *Listeria monocytogenes*, realizada no laboratório, para ser relatada.

A metodologia utilizada na pesquisa se baseia nas recomendações da ISO 11290-1:2017 e BAM/FDA (2022). Basicamente, são quatro etapas: enriquecimento primário (caldo LEB); enriquecimento secundário (caldo Fraser); plaqueamento seletivo diferencial (ágar OXA e ALOA); e seleção e purificação das colônias (ágar TSA-YE), com prova confirmatória bioquímica para hemólise em ágar sangue de carneiro e fermentação em açúcares (caldo TSB-YE e dextrose, ramnose, xilose e manitol).

#### a. Enriquecimento primário

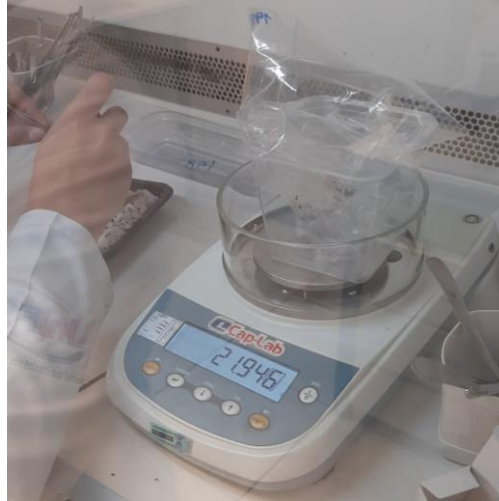
Essa primeira etapa é importante pois a amostra pode conter pequena quantidade de *Listeria spp.*, acompanhada de outros microrganismos, além de células lesadas. Dessa forma, o meio irá favorecer o crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Listeria spp.*, se houver na amostra, e a recuperação das células injuriadas.

O meio utilizado foi o LEB, um meio de enriquecimento seletivo, porém com concentração reduzida de agentes seletivos para *Listeria spp.*

Inicialmente, as amostras de *sushi* (Figura 32) foram separadas e, uma a uma, pesou-se 25 gramas em balança analítica (Figura 33) dentro de um saco plástico estéril tipo “stomacher”, procedimento realizado próximo à chama do bico de Bunsen.



**Figura 32.** Algumas das amostras de *sushi* que foram coletadas para o projeto de mestrado acompanhado.  
**Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



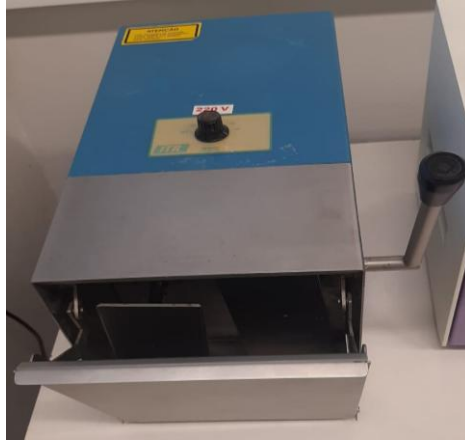
**Figura 33.** Balança analítica utilizada para a pesagem de 25 gramas de amostra. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

A amostra pesada é então direcionada a uma capela de fluxo laminar, local no qual serão adicionados 225 mL de caldo LEB à amostra (Figura 34), com o auxílio de uma proveta graduada para medição.



**Figura 34.** Amostra (25g) acondicionada no saco plástico estéril junto de 225 mL de caldo LEB. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Em seguida, o saco plástico é levado para homogeneização no aparelho “stomacher” (Figura 35) e destinado à estufa de 30 °C (Figura 36), permanecendo por 24 horas.



**Figura 35.** Aparelho “Stomacher”, utilizado para homogeneização de amostras diluídas em meio. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.



**Figura 36.** Estufas utilizadas no laboratório de microbiologia do SOAP. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

#### **b. Enriquecimento secundário**

A segunda etapa é realizada após 24 horas de permanência da amostra em estufa, no caldo LEB, e é utilizado o meio Fraser (Figura 37), também para enriquecimento seletivo de *Listeria spp.*, mas com concentração maior de agentes seletivos. Dessa forma, o crescimento de *Listeria monocytogenes* será favorecido, enquanto da microbiota acompanhante será inibido.

Inicialmente, é realizada a suplementação do caldo Fraser, diluindo o suplemento comercial próprio para o Fraser em 5 mL de solução salina estéril, seguindo para homogeneização. Pipetar 0,1 mL do suplemento diluído em cada tubo com 10 mL de caldo Fraser.

Em seguida, inocular 0,1mL da amostra já incubada com LEB para o tubo de ensaio com 10 mL do caldo Fraser já suplementado, com o auxílio de uma pipeta automática, seguindo para o banho-maria por 24 horas a 36 °C.



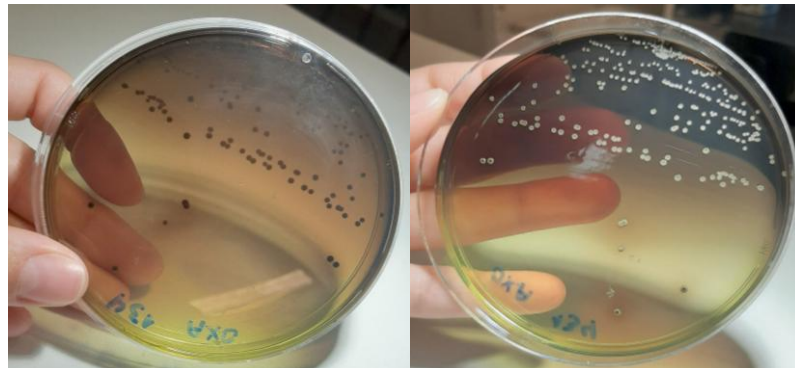
**Figura 37.** Caldo Fraser em tubo de ensaio. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

### c. Plaqueamento seletivo diferencial

A terceira etapa ocorre no terceiro dia, após corrido o tempo necessário do caldo Fraser no banho-maria.

Nessa etapa, a partir dos tubos de Fraser, é realizado o estriamento por esgotamento em dois meios seletivos solidificados, em placas de Petri, que são o ágar OXA e o ALOA, com a utilização de uma alça de inoculação. As placas são, então, incubadas invertidas em estufa de 36 °C por 48 horas.

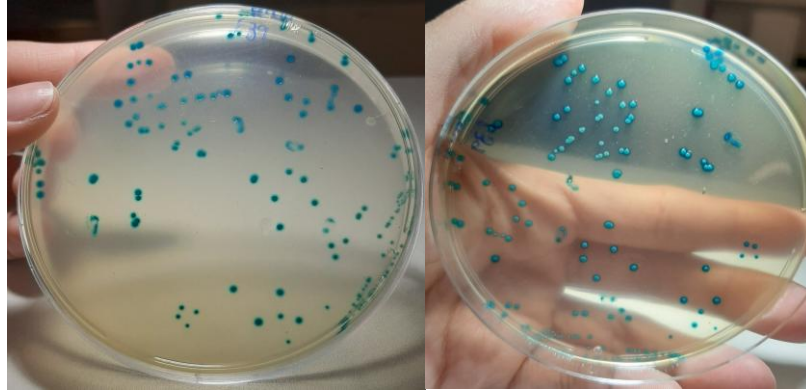
O ágar OXA é um meio à base de esculina com citrato férrico amoniacal, capaz de detectar a atividade da  $\beta$ -glicosidase e diferenciar *Listeria spp.* da microbiota acompanhante. As colônias típicas de *L. monocytogenes* formadas nessa placa serão pretas apresentando um halo preto, devido à hidrólise da esculina, realizada por todas listerias devido à presença da enzima  $\beta$ -glicosidase (Figura 38).



**Figura 38.** Colônias características de *Listeria monocytogenes* em ágar OXA. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

Já o ágar ALOA é um meio cromogênico, que além de diferenciar *Listeria spp.* de outros microrganismos devido à atividade da  $\beta$ -glicosidase,

também diferencia *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* das demais listerias, por meio da atividade de fosfolipase C. Dessa forma, as colônias típicas de *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* serão verde-azuladas, com 1 a 3 mm de diâmetro, apresentando um halo opaco ao redor (Figura 39). Outras espécies de listerias não formam o halo em volta das colônias.



**Figura 39.** Colônias características de *Listeria monocytogenes* em ágar ALOA. **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

#### **d. Seleção e purificação das colônias**

##### **Confirmação das colônias típicas em ágar TSA-YE**

Pelo menos cinco colônias típicas de *Listeria monocytogenes* de cada placa de OXA e duas colônias típicas de cada placa de ALOA serão estriadas, por esgotamento, em uma placa de Petri contendo TSA-YE (ágar triptona de soja com 0,6% de extrato de levedura), um ágar não seletivo, para seleção e purificação das colônias.

Em seguida, incubar as placas invertidas em estufa de 36 °C por 24 a 48 horas.

Após incubação, as colônias típicas de *L. monocytogenes* serão convexas, incolores e opacas (Figura 40), mas, ao colocar as placas contra a luz, em um ângulo de 45 graus, as colônias irão aparentar uma cor cinza/azulada e superfície granular.



**Figura 40.** Colônias típicas de *Listeria monocytogenes* em ágar TSA-YE.  
**Fonte:** foto cedida por Tales Vertuan, 2025.

#### **e. Provas de confirmação bioquímica**

##### **Teste de verificação de hemólise**

Com uma caneta permanente, demarcar setores no fundo de uma placa de ágar sangue de carneiro. Inocular cada uma das colônias suspeitas, das placas de TSA-YE, em um dos setores demarcados. A inoculação é feita por picada, até bem próximo do fundo da placa, mas sem tocar o fundo, por isso é importante que a camada de meio seja mais grossa.

Inocular, também, uma cepa controle positivo de *L. monocytogenes* crescida em meio OXA e uma de meio ALOA. Incubar as placas invertidas em estufa a 36 °C por 24 a 48 horas.

Posteriormente, para a leitura, iluminar as placas por trás e observar a formação de um halo transparente de hemólise ao redor da picada (Figura 41). As cepas de *L. monocytogenes* formam zonas discretas (halos de hemólise), que não se estendem muito para fora da região da picada, enquanto *L. ivanovii* forma zonas grandes e bem definidas.



**Figura 41.** Placa de Petri com ágar sangue, com repique tanto de OXA (O) quanto de ALOA (A) de uma amostra e controle positivo (C+). **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

### Teste de fermentação de carboidratos

A partir das placas de TSA-YE, inocular cada uma das culturas suspeitas em *ependorf* contendo TSB-YE (caldo triptona de soja com 0,6% de extrato de levedura) e incubando-os em estufa a 36 °C por 24 horas. O TSB-YE é um caldo de cultura não seletivo e pode ser utilizado para manutenção de microrganismos, podendo ser armazenado no *ependorf* por vários dias a 4 °C. Essa cultura incubada será utilizada para o teste de fermentação e poderá ser utilizada diversas vezes como inóculo.

Da mesma forma que no teste de hemólise, o fundo das placas de ágar púrpura base suplementado com 0,5% de carboidrato foram demarcados em setores, com caneta permanente. Então, a partir dos caldos de TSB-YE, inocular uma alçada de cada *ependorf* nas placas, em cada um dos setores demarcados. Incubar as placas invertidas em estufa a 36 °C por 48 horas.

Os açúcares utilizados na pesquisa para o teste de fermentação foram a xilose, ramnose, manitol e dextrose.

Após incubação, a alteração da cor do meio de púrpura para amarelo indica teste positivo (Figura 42). Tal reação ocorre devido à produção de ácido pela bactéria. Caso a cor do meio não se altere, o teste é negativo.

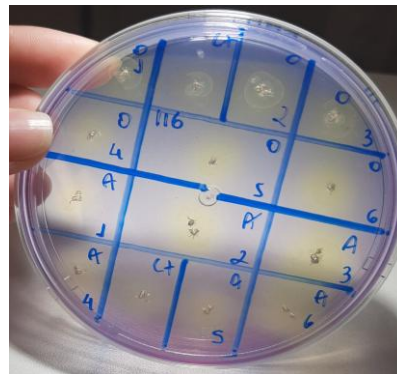
Todas as listerias fermentam a dextrose e a maltose. Já a *L. monocytogenes*, também fermenta a ramnose, mas não a xilose e o manitol (Tabela 3).

**Tabela 3.** Características comumente utilizadas na diferenciação de espécies do gênero *Listeria*, com foco nas duas espécies relacionadas a infecções em humanos.

Característica	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. ivanovii</i>
$\beta$ -hemólise	+	+
Ramnose	+	-
Xilose	-	+
Manitol	-	-
Dextrose	+	+

+, positivo; -, negativo.

**Fonte:** elaborado pela autora com dados de Silva *et al.* (2021) e IN SDA nº 62, de 26/08/2003.



**Figura 42.** Placa de Petri com açúcar ramnose, com repique tanto de OXA (O) quanto de ALOA (A) e um controle positivo (C+). **Fonte:** arquivo pessoal, 2025.

#### 4. Considerações finais

Em suma, o presente trabalho evidencia a importância de uma atuação conjunta da sociedade na prevenção e investigação de DTHA, sejam as próprias pessoas que apresentam sinais ou sintomas, os médicos, os agentes das vigilâncias sanitária e epidemiológica, laboratórios, pesquisadores e manipuladores de alimentos, seja nas indústrias ou nos serviços de alimentação. A educação da população sobre as DTHA é importante inclusive para evitar surtos originados no próprio ambiente domiciliar. Dessa forma, pode-se reduzir a subnotificação e subdiagnóstico de doenças como a listeriose, assim como prevenir e controlar surtos.

Também é importante promover estudos, continuamente, sobre a prevalência de biofilmes de *Listeria spp.* em plantas industriais ou serviços de alimentação, assim como sobre sua resistência a antibióticos e desinfetantes, buscando trazer melhorias em relação às boas práticas de fabricação e de manipulação e garantir alimentos seguros e de qualidade para os consumidores.

Além disso, a pesquisa de *Listeria monocytogenes* está bem estabelecida em literatura, podendo ser realizada a confirmação da bactéria na amostra por outras provas bioquímicas, além das utilizadas na pesquisa em questão, como teste de catalase, coloração de Gram e teste de motilidade. É possível avançar nas análises realizando a confirmação molecular, por meio de PCR, ou confirmação sorológica. Ademais, existem “kits” analíticos já oficializados pela AOAC *International* para a detecção de *Listeria monocytogenes* em alimentos.

## Referências

BITELLI, F. M.; CRONIS, G. T.; YAMAGUCHI, L. Restaurantes étnicos: diversidade gastronômica japonesa no bairro da liberdade na cidade de São Paulo. Revista Empreenda UNITOLEDO, v.2, n.2, p.170-185, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA n. 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa n. 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada n. 171, de 04 de setembro de 2006. Dispões sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada n. 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA). 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>>. Acesso em: 23 nov. 25.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico: Informe sobre surtos notificados de doenças transmitidas por água e alimentos – Brasil, 2016-2019. Brasília, DF: Ministério da Saúde, v. 51, n. 32, ago. 2020. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de->

[conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2020/boletim-epidemiologico-svs-32.pdf/view](#)>. Acesso em: 23 nov. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunizações e Doenças Transmissíveis. Vigilância epidemiológica das doenças de transmissão hídrica e alimentar: manual de treinamento. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 196p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 158 p.

CONTER, M.; PALUDI, D.; ZANARDI, E.; GHIDINI, S.; VERGARA, A.; IANIERI, A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, v.128, n.3, p.497-500, 2009.

DESTRO, M. T. *Listeria monocytogenes* na cadeia produtiva de alimentos: da produção primária ao consumidor final. Tese (Livre Docência), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. 74p.

FOOD BIZ BRASIL. Dia do *sushi*: culinária asiática cresce 9% no *foodservice* brasileiro, 2025. Disponível em: <<https://foodbizbrasil.com/dados-ifb/dia-do-sushi-crescimento-culinaria-asiatica-no-foodservice/>>. Acesso em: 23 nov. 2025.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2ª. Ed, Porto Alegre: Artmed, 2013. 620p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. 1ª. Ed, São Paulo: Atheneu, 1996. 186p.

HITCHINS, A. D.; JINNEMAN, K.; CHEN, Y. Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. In: Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration, 2022.

International Organization for Standardization. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria spp.* — Part 1: Detection method. ISO 11290-1, 2<sup>a</sup>. Ed, 2017.

MAZAHERI, T.; CERVANTES-HUAMAN, B. R. H.; BERMUDEZ-CAPDEVILA, M.; RIPOLLES-AVILA, C.; RODRIGUEZ-JEREZ, J. J. *Listeria monocytogenes* biofilms in the food industry: is the current hygiene program sufficient to combat the persistence of the pathogen? *Microorganisms*, v.9, n.1, p.1-19, 2021.

MONTANARI, A. S.; ROMÃO, N. F.; SOBRAL, F. O. S.; MARMITT, B. G.; SILVA, F. P. S.; CORREIO, T. C. A. M. Avaliação da qualidade microbiológica de *sashimis* de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japoneses no município de Ji-Paraná-RO. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v.2, n.1, p.4-16, 2015.

MORI, K. As condições de aceitação da culinária japonesa na cidade de São Paulo – por que os brasileiros começaram a apreciar a culinária japonesa? *Revista Estudos Japoneses*, n. 23, p.7-22, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Food Safety. Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/themes/food-safety>>. Acesso em: 24 nov. 2025.

ORSI, R. H.; WIEDMANN, M. Characteristics and distribution of *Listeria spp.*, including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.100, p.5273-5287, 2016.

PINTO, A.; NOVELLO, L.; MONTEMURRO, F.; BONERBA, E.; TANTILLO, G. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy. *New Microbiologica*, v.33, n.3, p.249-252, 2010.

PRATES, D. F. Ocorrência, caracterização sorológica e avaliação do perfil de resistência a antibióticos em *Listeria spp.* isoladas em laticínios processadores de queijos no sul do Rio Grande do Sul. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010. 98p.

RAMIRES, T.; KLEINUBING, N. R.; IGLESIAS, M. A.; VITOLA, H. R. S.; NUNCIO, A. S. P.; KRONING, I. S.; MOREIRA, G. M. S. G.; FIORENTINI, A. M.; SILVA, W. P. Genetic diversity, biofilm and virulence characteristics of *Listeria monocytogenes* in salmon sushi. *Food Research International*, v.140, p.1-8, 2021.

RIBEIRO, C. M. A.; PAOLUCCI, L. Gastronomia, interação cultural e turismo: estudo sobre a dispersão da culinária nipônica na cidade de São Paulo – 100 anos da imigração japonesa no Brasil. IV Seminário de Pesquisa em Turismo do MERCOSUL, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, 2006.

SILVA, D. A. F.; MEDEIROS, V. M.; CARVALHO, C. T.; TAVARES, R. D. O.; BRANDÃO, M. L. L.; VASCONCELLOS, L.; ROSAS, C. O.; LOPES, S. M. R. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e identificação dos sorovares em alimentos prontos para consumo comercializados no Estado do Rio de Janeiro. *Revista Científica UBM*, v.19, n.36, p.47-60, 2017.

SILVA, F. R. G.; RIBEIRO, L. F. *Listeria monocytogenes* e sua importância na indústria de alimentos. *Revista Gestão, Tecnologia e Ciências*, v.10, n.28, p.75-83, 2021.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M.; IAMANAKA, B. T. Manual de métodos

de análise microbiológica de alimentos e água. 6ª. Ed, São Paulo: Blucher, 2021. 602p.

SOMERS, E. B.; WONG, A. C. L. Efficacy of Two Cleaning and Sanitizing Combinations on *Listeria monocytogenes* Biofilms Formed at Low Temperature on a Variety of Materials in the Presence of Ready-to-Eat Meat Residue. *Journal of Food Protection*, v.67, n.10, p.2218-2229, 2004.

SOUZA, N. F. D.; PEREIRA, A. S. L.; SILVA, L. F.; CERQUEIRA-CEZAR, C. K.; TADIELO, L. E.; PEREIRA, J. G. Principais aspectos de *Listeria monocytogenes* e sua importância para a saúde pública. *Revista ARS Veterinária*, v.37, n.4, p.264-272, 2021.

TORO, M.; WILLIAMS-VERGARA, J.; SOLAR, C.; QUESILLE-VILLALOBOS, A. M.; KWON, H. J.; NAVARRETE, P; MENG, J.; CHEN, Y.; REYES-JARA, A. Evaluation of the persistence and characterization of *Listeria monocytogenes* in foodservice operations. *Foods*, v.11, n.6, p.1-22, 2022.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; BAIR, W. B.; WEBER, D.; FUNKE, B. R. *Microbiologia*. 14ª. Ed, Porto Alegre: Artmed, 2025. 901p.