

INCIDÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* EM ALIMENTOS

K. I. SILVÉRIO¹, G. G. PIERETTI¹, J. L. ANTIGO¹, L. A. C. TONON², J. G. MIKCHA³,
G. S. MADRONA²

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias

²Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia de Alimentos

³Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia Celular

E-mail para contato: gsmadrona@uem.br

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo analisar a incidência de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal. Foram analisadas 2569 amostras, que incluíam queijos, frangos, suínos, bovinos, embutidos, peixes e swabs. *L. monocytogenes* foi identificada em 40 amostras, sendo a maior incidência observada para frangos com 21 amostras presentes e depois queijos com 8 amostras presentes. Para as demais amostras ausentes para *L. monocytogenes*, 145 amostras foram presentes para outras espécies de *Listeria* sp. De acordo com os dados apresentados, pode-se concluir que, embora a prevalência de *L. monocytogenes* tenha sido de 1,5%, a ocorrência de 5,7% de contaminação por outras espécies de *Listeria* sp. pode ser um indicativo de que as indústrias de alimentos ainda apresentam dificuldades no controle desse patógeno, sendo necessária a readequação nas práticas de limpeza e sanificação das plantas de processamento para redução da contaminação dos alimentos e prevenção da listeriose.

1. INTRODUÇÃO

Devido a exigências do mercado consumidor de alimentos, o controle da qualidade tem tornado-se mais rigoroso, evidenciando a contaminação microbiológica nos processos de manipulação, industrialização e armazenamento. Esse aumento pode ser demonstrado na procura da análise de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal, acabados ou *in natura* (SILVA, VILARDI e TIBANA, 1998).

A relevância da *L. monocytogenes* em Saúde Pública diz respeito, de um lado, à gravidade da manifestação clínica, resultante do comprometimento do sistema nervoso central, e do outro, à possibilidade da infecção acometer preferencialmente as gestantes, com sérias consequências para os fetos (GERMANO e GERMANO, 2003). Inquestionavelmente patogênica para o homem, e, diferente da maioria dos patógenos de origem alimentar que geralmente provocam sintomas gastrointestinais, a listeriose se manifesta clinicamente com semelhança a um resfriado, com febre baixa e mal estar geral, podendo progredir para meningite, meningoencefalite, septicemia, aborto ou parto prematuro (JARADAT, SCHUTZE e BHUNIA 2001; SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997). Sendo os grupos mais susceptíveis representados por gestantes, neonatos, bebês, idosos e indivíduos com o sistema imunológico comprometido (LEITE *et al.*, 2002).

L. monocytogenes tem sido isolada a partir de uma grande variedade de produtos alimentares, crus ou processados, tanto de origem animal, como de origem vegetal e, sendo o ambiente um importante reservatório, não é de se surpreender que este micro-organismo aceda facilmente aos produtos alimentares (GUERRA e BERNARDO, 2004).

Diferentes estudos identificaram a presença de *Listeria monocytogenes* numa grande diversidade de alimentos, como carnes de bovinos, de suínos e de aves, leite e derivados, pescados, vegetais, alimentos embutidos e produtos diversos prontos para o consumo e refrigerados (SANTOS *et al.*, 2004). A maior importância da *L. monocytogenes* para a indústria de alimentos talvez seja o fato desta bactéria poder sobreviver e se multiplicar em temperatura de refrigeração. Este fator constitui num obstáculo para a maioria dos patógenos. Esse dado é relevante principalmente para os alimentos refrigerados prontos para consumo em caso de serem insuficientemente processados e/ou contaminados após o processamento (MCCARTHY, 1997).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) lançou a Política de Tolerância Zero que determina a ausência do *L. monocytogenes* patógeno em 25g/mL de amostra (UNITED STATES, 2006). Alguns países da Europa são mais tolerantes, admitindo a presença de até 100 células de *L. monocytogenes* por grama ou por mililitro de alimento (ARCHER, 1996).

A Legislação Brasileira não prevê limites de tolerância para a presença do microrganismo em carnes e produtos cárneos. A Resolução da Diretoria Colegiada, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA – RDC nº 12 de Janeiro de 2001) aprovou o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e somente estabeleceu a pesquisa de *L. monocytogenes* (ausência em 25g) para queijos de média, alta e muito alta umidade (BRASIL, 2014). Para outros produtos de origem animal não há padrão estabelecido.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a incidência de *L. monocytogenes* em produtos de origem animal, avaliando matérias primas destinadas ao processamento nas indústrias alimentícias e produtos prontos destinados ao consumidor final, visando disponibilizar dados sobre a ocorrência desse patógeno e sua importância para a saúde pública.

2. MATERIAL E METÓDOS

Foram analisadas 2309 amostras comerciais de diferentes marcas provenientes dos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. Foram obtidas amostras de queijos (minas e mussarela), frangos (corte e carcaça), suínos (corte), bovinos (corte e carcaça), embutidos (variados) e peixes. As análises bacteriológicas foram realizadas no laboratório de análise de alimentos e água, credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2014) e habilitado pela REBLAS/ANVISA localizado na cidade de Maringá, PR., os produtos foram mantidos sob refrigeração até o momento da análise. Realizou-se o isolamento e a identificação bioquímica das bactérias do gênero *Listeria*, segundo metodologia preconizada pelo MAPA, pela Normativa SDA Nº 62 de 26 de agosto de 2003.

O enriquecimento seletivo foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa 25±0,2 g/mL foram homogeneizadas em 225 mL de caldo UVM (Difco) e incubadas a 30 ± 1 °C por 24 horas.

Na segunda etapa, após o período de incubação, foram transferidos 0,1 mL da cultura inicial para Caldo Fraser (Difco) suplementado com citrato de amônio e ferro III que foi incubado a 30 ± 1 °C por 24 a 48 horas.

Após o enriquecimento seletivo as amostras de produtos cárneos foram semeadas em ágar triptose com ácido nalidíxico (ATN – Difco) e ágar Palcam (AP – Difco) e as amostras de produtos lácteos foram semeadas em ágar Oxford suplementado (AO – Difco) e ágar Palcam suplementado (AP – Difco). As placas de ATN foram incubadas a 30 ± 1 °C por 24 horas e as placas de AP e AO na mesma temperatura, por 24 a 48 horas.

Três colônias típicas de cada amostra foram semeadas em ágar Estoque (Difco) sendo incubadas a 30 ± 1 °C por 24 horas. A partir das colônias isoladas em ágar estoque inclinado, foram realizadas a coloração de Gram e as provas bioquímicas de catalase, motilidade, redução de nitrato, produção de α -hemólise e fermentação de carboidratos.

Para a identificação de *L. monocytogenes* o utilizou-se o Kit de Identificação API LISTERIA (BioMérieux) sendo utilizado como controle positivo a cepa *L. monocytogenes*, ATCC 7644.

3. RESULTADOS DISCUSSÃO

Das 2309 amostras analisadas, de produtos acabados e “*in natura*”, 132 (5,72 %) apresentaram contaminação por *Listeria* spp sendo 38 (1,65%) positivas para *L. monocytogenes*. A relação de cepas dos diferentes sorotipos isolados para frango (carcaça e corte), suínos (corte), embutidos (variados) e bovinos (carcaça e corte) estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Ocorrência de *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp. em amostras de frangos, suínos, embutidos e bovinos

Espécie de <i>Listeria</i>	Frango	% por espécie	Suíno	% por espécie	Embutido	% por espécie	Bovino	% por espécie
<i>L. monocytogenes</i>	21	2,8%	4	3,6%	4	3,3%	0	0,0%
<i>L. welshimeri</i>	23	3,1%	3	2,8%	4	3,5%	5	5,2%
<i>L. grayi</i>	10	1,3%	4	3,7%	4	3,5%	0	0,0%
<i>L. innocua</i>	4	0,5%	1	0,9%	1	0,8%	3	3,1%
<i>L. ivanovii</i>	2	0,2%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%
<i>L. seeligeri</i>	1	0,1%	1	0,9%	0	0,0%	1	1,0%
Total <i>Listeria</i> spp.	40	5,5%	9	8,4%	9	7,8%	9	9,4%
Total de Amostras	745		111		119		95	

A Tabela 2 apresenta os resultados para as amostras de queijo e peixe avaliadas.

Tabela 2 - Ocorrência de *L. monocytogenes* e *Listeria spp.* em amostras de queijos e peixe

Espécie de <i>Listeria</i>	Queijo	% por espécie	Peixe	% por espécie
<i>L. monocytogenes</i>	8	0,7%	1	2,7%
<i>L. welshimeri</i>	9	0,7%	1	2,8%
<i>L. grayi</i>	23	1,9%	3	8,3%
<i>L. innocua</i>	12	1,0%	0	0,0%
<i>L. ivanovii</i>	7	0,6%	0	0,0%
<i>L. seeligeri</i>	9	0,7%	1	2,8%
Total <i>Listeria spp.</i>	60	5,0%	5	13,9%
Total de amostras	1202		37	

A maior ocorrência de contaminação por *L. monocytogenes* se deu em amostras de suínos (cortes) *L. monocytogenes* foi identificada em 4 amostras (3,6%) das 111 analisadas, resultado este similar ao encontrado para embutidos, para o total de 119 amostras testadas, *L. monocytogenes* foi presente em 4 amostras (3,3%) e para frangos (carcaças e cortes) das 745 amostras analisadas, 21 amostras (2,8%) apresentaram *L. monocytogenes*. Para as amostras de carne bovina (cortes e carcaças) analisadas, *L. monocytogenes* não foi detectada em nenhuma das 95 amostras analisadas.

Em queijos *L. monocytogenes* foi identificada em 8 (0,7%) das 1202 amostras analisadas. Para as amostras de peixe analisadas, *L. monocytogenes* foi identificada em uma amostra (2,7%) das 37 analisadas.

Pode-se observar que *L. monocytogenes* foi isolada em vários tipos de alimentos devendo ser ressaltado que alguns destes são produtos prontos para o consumo, não sendo submetidos a tratamentos térmicos, e mantidos sob temperaturas de refrigeração, propiciando condições necessárias para o desenvolvimento de *L. monocytogenes*.

Devido à alta ocorrência de *L. monocytogenes* em aves, e também por ser esta uma das fontes de proteína animal de baixo custo utilizada pelo homem, as aves tem merecido atenção especial por parte de alguns pesquisadores. É de suma importância alertar para o aumento de contaminação desse produto, podendo ser atribuído principalmente ao processo de abate das aves, onde a *Listeria spp.* pode estar presente nas fezes desses animais e também nas águas dos chillers, gerando a contaminação cruzada dos alimentos.

De acordo com Kamat e Nair (1996), *L. innocua* pode ser um organismo ideal e seguro como um marcador de *L. monocytogenes* em indústrias alimentícias, visto que este exibe a maioria das características da *L. monocytogenes*, com exceção da não produção de hemolisina e da apatogenicidade. Isto possibilita o uso de *L. innocua* como um indicador biológico para verificar a eficiência destes tratamentos, efetuados durante o processamento de produtos cárneos. No presente estudo, a maior ocorrência de *L. innocua* nas amostras de queijos corrobora com os resultados encontrados por Petran e Swanson (1993).

Das 60 amostras de queijos 8 apresentaram contaminação por *L. monocytogenes* (Tabela 2). Dentre os produtos lácteos, os queijos são os mais comumente contaminados por essa bactéria (BORGES, 2009), segundo o autor esta contaminação está associada principalmente ao leite

usado na fabricação ou ao ambiente de processamento. No Brasil, *L. monocytogenes* foi encontrada em 50% das amostras de leite cru e em 16,7% das amostras de leite pasteurizado e em 25% dos tubos de borracha utilizados para transportar o soro (GUERRA e BERNARDO, 2004).

A menor ocorrência de cepas isoladas de *L. monocytogenes* em carne suína, embutidos e peixes foi também constatada por Santos et al (2005) isolando este micro-organismo em apenas uma amostra e Bersot *et al.* (2001) que também encontraram um baixo percentual deste micro-organismo em 26,0 % das 30 amostras de mortadela analisadas. Nihal (2010) isolou *L. monocytogenes* em 44,5% das 30 amostras de peixes de água doce analisadas e César (2008), isolou *L. monocytogenes* em 3 das 76 amostras de swabs de superfície coletados em indústrias produtoras de salsicha.

Não foi identificada a presença do patógeno em amostras de carne bovina, em contrapartida, Vitas, Aguado e Garciajalón (2004) isolaram *L. monocytogenes* em 103 das 295 amostras de carne bovina crua analisadas.

No que diz respeito à incidência das espécies *Listeria*, *Listeria welshinerie* seguida por *L. grayi* e *L. monocytogenes* foram isoladas com maior frequência.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos nesse trabalho, pode-se concluir que em geral encontraram-se baixos valores de ocorrência de *L. monocytogenes*, sendo a maior ocorrência de 3,6% para suínos e a menor para bovinos (0%). Conclui-se que indústria de alimentos ainda apresenta dificuldades no controle desse patógeno, sendo necessária a readequação nas práticas de limpeza e sanitização das plantas de processamento para redução da contaminação dos alimentos e prevenção da listeriose.

5. REFERÊNCIAS

ARCHER DL. *Listeria monocytogenes*: the science and policy. *Food. Cont.* v. 7, n.4, p. 181-200, 1996.

BERSOT LS; LANDGRAF M; FRANCO DDG; DESTRO MT. Production of mortadella: behavior of *L. monocytogenes* during processing and storage conditions. *Meat. Sci.* v. 57, p. 19-26, 2001.

BORGES MF. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos - Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – MAPA/DAS. IN Nº 62 de 26 de Agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>. Acesso em: 20 janeiro de 2014.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC no. 12, de 02 de Janeiro de 2001 – Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm. Acesso em: 20 de janeiro de 2014.

CESAR APR. *Listeria spp. e Listeria monocytogenes* na produção de salsichas tipo Hot Dog e hábitos de consumo. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2008.

GERMANO PML; GERMANO MIS. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela; 2003.

GUERRA MM; BERNARDO FA. Fontes de contaminação dos alimentos por *Listeria monocytogenes*. *Hig. Alim.*, v. 18, n. 120, p.12-8, 2004.

JARADAT ZW; SCHUTZE GE; BHUNIA AK. Genetic homogeneity among *Listeria monocytogenes* strains from infected patients and meta products from two geographic locations determined by phenotyping, ribotyping and PCR analysis of virulence genes. *Int. J. Food Microb.* v. 76, p.1-10, 2001.

KAMAT, A. S.; NAIR, P. M. Identification of *Listeria innocua* as a Biological indicator for inactivation of *L. monocytogenes* by some meat processing treatments. *Leb.-Wissu-Tech.*, v. 29, p. 714-720, 1996.

LEITE CC; GUIMARÃES AG; RIBEIRO NS; ASSIS PN. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* em queijo do tipo “coalho” comercializado em Salvador. *Rev Anal* v. 2, n. 1 p.38-41, 2002.

MCCARTHY SA. Incidence and survival of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat seafood products. *J Food Prot.* v. 60, n. 4, p. 372-376, 1997.

NIHAL Y. Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* species in fish used for human consumption in Turkey. *J Food Prot.* v. 73, n. 2, p. 380-385, 2010.

PETTRAN, R. L.; SWANSON, K. M. J. Simultaneous Growth of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua*. *J Food Prot.*, v. 56, n. 7, p. 616-618, 1993.

SANTOS LAG; PINTO PSA; MORAES MP; VANETTI MCD; BEVILACQUA PD; PINTO MS. Detecção de *Listeria monocytogenes* como subsidio a determinação de pontos críticos de controle no abate de suínos. *Biocie. J* v. 21, n.2, p. 131-135, 2005.

SANTOS LAG; TEODORO VAM; MONTEIRO LL; GUIMARÃES KR; PINTO PSA; BEVILACQUA PD. *Listeriose* transmissível por produtos de origem animal. *Hig. Alim.* v. 18, n. 124, p. 35-42, 2004.

SILVA MCD; VILARDI TCC, TIBANA A. Avaliação de métodos para a detecção de *Listeria* em queijos. *Ciên. e Tec. Alim.* v. 18, n. 2, p.150-155,1998.

SILVA N; JUNQUEIRA VCA; SILVEIRA NFA. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela; 1997.

United States. Departamento of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. Science Laboratories e Procedures. Guide books e Methods. Microbiology laboratory Guidebook Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from read meat, poultry, egg and environmental samples. 8.05. Disponível em: www.usda.gov. Acesso em: 16 de dezembro de 2006.

VITAS AI; AGUADO V; GARCIAJALON I. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int. J Foo. Microb.*, v. 90, n.1, p. 349-356, 2004.