

OCORRÊNCIA DE *LISTERIA* spp. NO AMBIENTE DE PROCESSAMENTO E CORTES DE CARNE BOVINA

VECCHIA, Joline Dalla¹; GANDRA, Tatiane Kuka Valente¹; OLIVEIRA, Mauricéia Greici¹; PRATES, Denise da Fontoura¹; SILVA, Wladimir Padilha¹

¹Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Laboratório de Microbiologia de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas - Caixa Postal 354 - CEP 96010-900 - Pelotas, RS – Brasil – Email: kihdallavecchia@gmail.com / silvawp@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

L. monocytogenes é uma bactéria amplamente distribuída na natureza, frequentemente encontrada em produtos cárneos (FSIS, 1998). Esse patógeno é o agente causador da listeriose, uma infecção alimentar atípica que apresenta alta taxa de mortalidade, período de incubação longo e predileção por indivíduos que tenham condições imunológicas deficitárias (ROCOURT & COSSART, 1997). Está associada a casos de encefalites, septicemias, meningites e abortos (DUSSURGET; PIZARRO-CERDA & COSSART, 2004). Este micro-organismo pode contaminar vegetais pelo solo ou através da utilização de adubos orgânicos contaminados durante seu cultivo. Já os animais podem portar a bactéria sem apresentar a doença, contaminando os alimentos como carne e leite (CDC, 2005).

No Brasil, não há relatos de surtos de listeriose e, os casos, são subdiagnosticados e/ou subnotificados. Uma vez que, já houve o isolamento de cepas de *L. monocytogenes* em pacientes no país, das quais estudou-se a relação entre a prevalência e as características destas cepas, sem se estabelecer relação alguma com a via de transmissão do patógeno (CRUZ *et al.*, 2008).

A incorporação de *L. monocytogenes* em plantas de processamento de carnes pode ocorrer pela presença de resíduos de terra em calçados, por animais portadores ou que apresentem couro e superfícies contaminados, por alimentos crus de origem animal e, possivelmente, por portadores humanos assintomáticos. A diversidade encontrada neste tipo de ambiente possibilita ao micro-organismo vários sítios de colonização podendo aderir a diversas superfícies, como aço inoxidável, vidros e borrachas, com possível formação de biofilmes (JEONG & FRANK, 1994).

Dessa forma, o objetivo nesta pesquisa foi analisar a ocorrência de *Listeria* spp. no ambiente de processamento e nos cortes (filé Mignon e alcatra) de carne bovina, avaliando o papel desses pontos como potenciais fontes de contaminação do produto final.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em um frigorífico-abatedouro localizado na região sul do Rio Grande do Sul, onde avaliaram-se 32 amostras referentes ao ambiente da sala de cortes. As amostras foram coletadas em cinco pontos distintos: mesas, facas, mãos dos manipuladores (antes do início do processo e durante a execução dos cortes). Além desses pontos, avaliou-se os cortes filé Mignon e alcatra, 5 e 3 amostras, respectivamente.

A amostragem foi realizada conforme as recomendações vigentes na Comunidade Européia (COMMISSION REGULATION - CE, 2007). As superfícies das mesas e facas foram amostradas utilizando-se *swab* de algodão esterilizado, perfazendo uma superfície total de 25 cm². As mãos dos manipuladores foram

amostradas pela técnica da lavagem superficial com 100mL de água salina (0,85%) peptonada (0,1%). As amostras dos cortes finais de filé Mignon e alcatra foram adquiridas em sua embalagem original. Acondicionadas em caixas isotérmicas, todas as amostras foram destinadas ao Laboratório de Microbiologia do DCTA/FAEM/UFPel.

No laboratório, foi realizada a amostragem dos cortes através da técnica de esfregação de superfície (Espanjas 3M™) onde cada peça foi amostrada em 4 pontos distintos com auxílio de esponjas e moldes de 100 cm² (10cm x 10cm) estéreis. O conjunto de esponjas referente a amostragem de cada corte foi suspenso em 200mL de solução salina peptonada (0,1%), e agitado em homogeneizador peristáltico tipo Stomacher. As amostras referentes aos cortes e às mãos dos manipuladores sofreram centrifugação, a uma velocidade de 1000xg. Os homogenatos obtidos foram ressuspensos em caldo Half Fraser (*Oxoid*) e submetidos à análise de *Listeria* spp. conforme a metodologia preconizada pelo International Organization for Standardization (ISO 11.290-1, 2004), com modificações. Os swabs contendo caldo Half Fraser, foram incubados a 30°C por 24 horas, segundo a metodologia proposta.

Após a etapa de pré-enriquecimento em caldo Half Fraser, uma alíquota foi transferida para caldo Fraser (*Oxoid*) e incubada a 35°C por 48 horas. Após o período de desenvolvimento, a cultura foi repicada para os ágaros Oxford (*Oxoid*) e Cromogênio (*Oxoid*), que foram incubados a 35°C por 48 horas. Os isolados típicos foram submetidos a testes fenotípicos de reação da catalase, teste de motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e teste de verificação de β-hemólise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos em relação à presença de *Listeria* spp. nos pontos de amostragem avaliados.

Tabela 1 - Ocorrência de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* no ambiente da sala de cortes de carcaças bovinas e em amostras de cortes (filé Mignon e alcatra).

Pontos (nº de amostras)	<i>Listeria</i> spp.	
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>
Mesa antes* (4)	0	0
Mesa durante** (4)	1	1
Faca antes (4)	1	1
Faca durante (4)	0	1
Mãos antes (4)	0	0
Mãos durante (4)	0	0
Filé Mignon (5)	0	2
Alcatra (3)	0	1
TOTAL (32)	2	6

* referente à amostragem antes do início das atividades de processamento

** referente à amostragem durante as atividades de processamento

Avaliando os resultados obtidos é possível verificar que o isolamento de *Listeria* spp. foi observado em 8 (25%) amostras de superfície, sendo 2 (25%) amostras positivas para *L. monocytogenes* e 6 (75%) amostras positivas para *L. innocua*.

A presença de *L. monocytogenes* foi verificada em dois pontos do ambiente: na faca, antes do início do processo de cortes, e na mesa, durante as operações de corte. Esse resultado está em acordo com diversas pesquisas que apontam o ambiente e os equipamentos como fontes potenciais de contaminação de carnes e produtos cárneos por *Listeria* spp. (BARBALHO et al., 2005).

CHIARINI (2007) relata que inúmeros estudos demonstram que amostras coletadas em superfícies visivelmente limpas apresentam maior incidência de *Listeria monocytogenes* do que amostras provenientes de superfícies com sujidades, uma vez que esse patógeno não é um bom competidor com outros microrganismos.

A presença de *L. innocua* no filé Mignon e alcatra sugerem a ocorrência de contaminação cruzada, visto que o microrganismo também foi isolado das facas e mesas utilizadas durante as operações de corte. Em estudos conduzidos por Kasnowsk (2004), foram isoladas 173 cepas de *Listeria* spp. provenientes de 30 amostras de alcatra.

Vale ressaltar que a detecção de *L. innocua* não deve ser subestimada visto que a presença dessa espécie não-patogênica pode ser um indicativo da presença de *L. monocytogenes*, e também porque *L. innocua* já esteve envolvida em caso clínico de listeriose humana (PERRIN et al., 2003). Segundo Barbalho (2002), a detecção de qualquer espécie de *Listeria* spp. nos alimentos e superfícies envolvidas com processamento de alimentos, é uma possível indicação da presença de *L. monocytogenes*.

Segundo UHITIL et al. (2004), a dificuldade em eliminar esse micro-organismo das indústrias é potencializada pela habilidade de *Listeria* spp. em produzir biofilmes, podendo se aderir e colonizar superfícies de equipamentos e utensílios. No Brasil, em um trabalho recente realizado por CHIARINI (2007) em um abatedouro de aves, foram avaliadas 158 amostras de superfícies que estavam em contato com o alimento e 99 de superfícies sem contato com o alimento. Nesse estudo, o autor verificou que 31 (19,6%) amostras de superfícies de contato e 27 (27,3%) amostras de superfícies sem contato foram positivas para *L. monocytogenes*, evidenciando que o ambiente pode ser uma fonte potencial de contaminações.

A ausência deste patógeno nas mãos dos manipuladores, tanto antes como durante as operações, indica que essa não é uma importante fonte de contaminação do produto final e infere ainda que existe adoção de práticas adequadas de limpeza e desinfecção das mãos.

Contudo, a presença de *Listeria* spp. tanto no ambiente de processamento dos alimentos quanto na carne bovina, reforça a importância do controle e monitoramento das etapas de limpeza e sanificação, de modo a evitar contaminações recorrentes no produto final.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos permitem afirmar que o ambiente de processamento avaliado é uma potencial fonte de contaminação do produto final, assim como nos indicam a necessidade de uma reavaliação quanto às práticas de higienização e sanitização utilizadas, de modo a assegurar a inocuidade do produto final.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBALHO, T.C.F. de. **Listeria em abatedouro de frangos: ocorrência, disseminação e proposição de um método rápido para confirmação e identificação das espécies**. 2002. 73 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

BARBALHO, T.C.F.; ALMEIDA, P.F.; ALMEIDA, R.C.C.; HOFER, E. Prevalence of *Listeria* spp. at a poultry processing plant in Brazil and a phage test for rapid confirmation of suspect colonies. **Food Control**, v.16, p. 211-216, 2005.

CDC - Center for Disease Control and Prevention. **Listeriosis. General Information**. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/listeriosis/>>. Acesso em: Agosto 2010.

CHIARINI, E. **Listeria monocytogenes em matadouros de aves: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação**. 2007. Tese apresentada para a obtenção do título de DOUTOR junto à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. 149p., São Paulo, 2007.

COMMISSION REGULATION (CE) N.º 1441/2007. Amending Regulation (CE) N.º 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**. 18p., 5 December 2007.

CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B.; DESTRO, M. T. *Listeria monocytogenes*: an infectious agent scarcely known in Brazil. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.19, n.2, p. 195-206, abr./jun. 2008.

DUSSURGET, O.; PIZARRO-CERDA, J.; COSSART, P. Molecular determinants of *Listeria monocytogenes* virulence. **Annual Review of Microbiology**, v. 58, p. 587-610, 2004.

FOOD SAFETY AN INSPECTION SERVICE. Washington DC. Pathogens reduction and HACCP system and beyond. 1998.

GILL, C.O.; DESLANDES, B.; RAHN, K.; HOUDE, A.; BRYANT, J. Evaluation of the hygienic performances of the processes for beef carcass dressing at 10 packing plants. **Journal of Applied Microbiology**, Bedford, v.84, n.6, p.1050-1058, 1998.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* spp., 1th ed, 2004.

JEONG, D. K.; FRANK, J. F. Growth of *Listeria monocytogenes* at 10oC in biofilms with microorganisms isolated from milk and dairy processing environments. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.57, p.576- 586, 1994.

KASNOWSKI, M. C. **Listeria spp., Escherichia coli: isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída**. 2004. 110 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

PERRIN, M.; BEMER, M.; DELAMARE, C. Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, nº. 11, p. 5308-5309, 2003.

ROCOURT, J.; COSSART, P. **Listeria monocytogenes**. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Eds). **Food microbiology: fundamentals and frontiers**. Washington : ASM, 1997. p.337-352

UHITIL, S. et al. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and the other *Listeria* spp. in cakes in Croatia. **Food Control**, v. 15, n. 3, p. 213-216, 2004.