

OCORRÊNCIA DE *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* EM CARÇAÇAS BOVINAS MONITORADAS EM FRIGORÍFICOS-ABATEDOUROS COM DISTINTOS NÍVEIS DE INSPEÇÃO

VECCHIA, Joline Dalla¹; OLIVEIRA, Mauricéia Greici¹; GANDRA, Tatiane Kuka Valente¹; IGLESIAS, Mariana Almeida¹; 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 /
wladimir.padilha2011@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é o agente etiológico da listeriose, e sua importância em saúde pública está relacionada à severidade dessa infecção (ARRUDA *et al.*, 2007), cuja taxa de letalidade pode atingir 50% (CDC, 2005). Ainda que a maioria dos casos de listeriose veiculada por alimentos não seja diagnosticada, essa é considerada a principal via de transmissão da doença ao homem (MANTILLA, 2006).

Segundo a FDA (2009), a listeriose acomete preferencialmente gestantes, recém-nascidos e indivíduos com o sistema imunológico debilitado, incluindo idosos. No Brasil, não há relatos de surtos, e casos de listeriose são subdiagnosticados e/ou subnotificados, entretanto, realizaram-se estudos em relação à prevalência e características de cepas de *L. monocytogenes* isoladas de pacientes no país, visando um melhor entendimento da enfermidade, mas sem estabelecer relação alguma com a via de transmissão do patógeno (CRUZ *et al.*, 2008). Recentemente, em Louisiana, EUA, foi relatado um surto de listeriose envolvendo quatorze pessoas com idade média de 64 anos, com óbito de dois pacientes (CDC, 2011).

As bactérias pertencentes ao gênero *Listeria* são muito difundidas na natureza, podendo ser isoladas do solo, água, vegetais em decomposição e, em alguns casos, como integrantes da microbiota fecal de muitos mamíferos, incluindo humanos adultos saudáveis (ABRAM *et al.*, 2008). Os animais podem carrear *L. monocytogenes* assintomaticamente e, assim, disseminá-la para os alimentos de origem animal, tais como carne e leite (CDC, 2005).

A legislação brasileira não prevê limites de tolerância para a presença do micro-organismo em carnes e produtos cárneos, a Resolução nº 12 (ANVISA-RDC Nº 12/2001) somente estabelece a pesquisa de *L. monocytogenes* (ausência em 25g) para queijos de média a muito alta umidade (BRASIL, 2001). Porém, tem-se observado que a presença desse micro-organismo no ambiente de processamento de alimentos é inevitável (JAY, 2005), por isso o controle do patógeno deve ser realizado, essencialmente, nos pontos de origem da matéria-prima, através de medidas que minimizem as chances de contaminação (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Considerando o exposto, o objetivo desta pesquisa foi verificar a ocorrência de *Listeria* spp. e de *Listeria monocytogenes* em carcaças bovinas monitoradas em frigoríficos-abatedouros, com distintos níveis de inspeção.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A tomada de amostras foi realizada em dois frigoríficos-abatedouros, denominados Frigorífico A (inspecionado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e

Abastecimento – MAPA), e Frigorífico B (inspecionado pela Coordenadoria de Inspeção de Produtos de Origem Animal – CISPOA), ambos localizados na região sul do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas no período de abril de 2010 a julho de 2011, avaliando-se 95 carcaças. As amostras superficiais de carcaças bovinas foram coletadas em quatro pontos considerados críticos na linha de abate: após sangria (ponto 1), após esfolagem (ponto 2), após evisceração (ponto 3) e após lavagem pré-resfriamento (ponto 4).

A amostragem foi realizada segundo as recomendações vigentes na Comunidade Européia (COMMISSION REGULATION, 2007), utilizando-se a técnica de esfregaço em superfície (Esponjas 3M™), aplicada na região do peito do animal, nas respectivas carcaças e meias-carcaças. As amostras obtidas em cada ponto de coleta foram acondicionadas em *bags* estéreis e, sob refrigeração, conduzidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCTA/FAEM/UFPeI.

No laboratório, cada conjunto de esponjas foi adicionado de 200mL de solução salina peptonada (0,1%) e agitado em homogeneizador peristáltico tipo *Stomacher*. Após centrifugação a uma velocidade de 1000xg, os homogenatos obtidos foram submetidos à avaliação da presença de *Listeria* spp. e de *Listeria monocytogenes*, conforme a metodologia preconizada pela International Organization for Standardization (ISO 11.290-1, 2004), com modificações.

A etapa de pré-enriquecimento foi realizada em caldo Half Fraser (*Oxoid*®) com incubação a 30°C por 24 horas, seguida da incubação de uma alíquota em caldo Fraser (*Oxoid*®) a 35°C por 48 horas. A semeadura foi realizada nos ágar Oxford (*Oxoid*®) e Cromogênio (*Oxoid*®) a 35°C por 48 horas. Os isolados característicos foram submetidos a testes fenotípicos de produção de catalase, motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e produção de β-hemólise.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos nos pontos de amostragem.

Tabela 1. Ocorrência (%) de *Listeria* spp. nos pontos de amostragem avaliados, em 42 e 53 carcaças, nos Frigoríficos A e B, respectivamente.

Pontos amostrados	Frigorífico A		Frigorífico B		
	<i>L. innocua</i> % (n°)	<i>L. Gray</i> % (n°)	<i>L. monocytogenes</i> % (n°)	<i>L. innocua</i> % (n°)	<i>L. welshimeri</i> % (n°)
Ponto 1*	26,2% (11/42)			18,9% (10/53)	3,8% (2/53)
Ponto 2*					
Ponto 3*	2,4% (1/42)	2,4% (1/42)		1,9% (1/53)	
Ponto 4*			3,8% (2/53)	7,5% (4/53)	

*Ponto 1: após sangria; Ponto 2: após esfolagem; Ponto 3: após evisceração; Ponto 4: após lavagem pré-resfriamento.

É possível verificar que em ambos os frigoríficos-abatedouros, a ocorrência de *Listeria* spp. foi maior no ponto 1, fato que pode ser justificado pela amostragem ter sido realizada no couro, e esse ser um carreador de fezes e demais sujidades.

Além disso, observou-se que nos dois estabelecimentos, a ocorrência de *L. innocua* nas carcaças bovinas foi superior à das demais espécies de *Listeria*. Esse resultado está em concordância com outros autores, os quais também citam essa

espécie como a mais frequente, tanto em carcaças quanto em cortes finais de bovinos e aves (KASNOWSKI, 2004; YUCEL *et al.*, 2004; FERRONATTO, 2010).

No Frigorífico A, apenas após as etapas de sangria e evisceração (Pontos 1 e 3, respectivamente), foram isoladas espécies não patogênicas de *Listeria* (*L. innocua* e *L. gray*). A ausência de *Listeria* spp. nas amostras após a lavagem pré-resfriamento (Ponto 4) demonstra que, nesse estabelecimento de inspeção Federal, a operação foi eficiente para a redução da contaminação microbiana adquirida nas etapas anteriores do abate.

Verificou-se que após a evisceração (Ponto 3), a taxa de isolamento de *Listeria* spp. foi baixa nos dois estabelecimentos, sendo de 1,9% (1/53) no Frigorífico B e 4,8% (2/42) no Frigorífico A. As espécies isoladas nesse ponto de amostragem foram caracterizadas fenotipicamente como *L. innocua* e *L. gray*, ambas consideradas não-patogênicas. A ausência de *Listeria* spp. após a esfolagem (Ponto 2) nos dois frigoríficos avaliados denota que a esfolagem foi realizada de modo que os micro-organismos presentes não foram carregados para a carcaça, e que a contaminação verificada na etapa de evisceração pode ser resultante da contaminação cruzada decorrente do contato com utensílios e equipamentos contaminados. Porém, segundo SANTOS (2003), a presença de *Listeria* spp. após a etapa de evisceração, indica que a carcaça pode ter sido contaminada por fezes de animais portadores sadios ou doentes durante o abate.

Vale ressaltar que mesmo sendo considerada uma espécie não-patogênica, a elevada ocorrência de *L. innocua* observada nesse estudo, não deve ser subestimada, uma vez que esse micro-organismo é um indicador da presença de *L. monocytogenes*, por apresentarem similaridade em exigências nutricionais e ambientais, além de serem provenientes das mesmas fontes de contaminação (KASNOWSKI, 2004).

Destaca-se a ocorrência de *L. monocytogenes* após a etapa de lavagem pré-resfriamento das carcaças (Ponto 4), no frigorífico B, já que sua presença na carne é preocupante do ponto de vista de saúde pública. Esse resultado infere que a operação de lavagem não foi eficiente na remoção de patógenos naquele frigorífico, podendo ter, inclusive, redistribuído a contaminação superficial pré-existente, já que o micro-organismo não foi isolado nas etapas anteriores. Isso denota a necessidade de readequações desse processo operacional, visto que a temperatura e pressão da água de lavagem podem ter influenciado na eficiência do processo (SABA; BÜRGER; ROSSI, 2010). Resultado semelhante foi observado por FRANÇA (2008), que encontrou 10% de amostras positivas (3/30) para *L. monocytogenes* em meias carcaças resfriadas de bovinos. SAKATE *et al.* (2004), de um total de 516 amostras, incluindo carcaças e cortes cárneos, isolaram *L. monocytogenes* de 27 amostras, sendo 2 de carcaças após sangria.

Considerando os resultados obtidos nos frigoríficos-abatedouros foi possível constatar que a presença de *Listeria* spp., em especial *L. monocytogenes*, refletiu as diferenças existentes no rigor do controle sanitário em estabelecimentos com distintos níveis de inspeção.

4 CONCLUSÃO

Verificou-se a presença de *Listeria* spp. e de *L. monocytogenes* nas carcaças bovinas. A ocorrência desses micro-organismos, em especial de *L. monocytogenes*, nas carcaças avaliadas no ponto de lavagem pré-resfriamento, demonstra a

necessidade de reavaliação desse processo operacional no frigorífico B, visto que a presença desse patógeno representa risco potencial de listeriose ao consumidor.

5 REFERÊNCIAS

- ABRAM, F. *et al.* Identification of Components of the Sigma B regulon in *Listeria monocytogenes* that contribute to acid and salt tolerance. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.22, p.6848-6858, 2008.
- ARRUDA G. A.; GERMANO, P. M. L.; MATTÉ, M. H.; OLIVEIRA, C. J. R. **Listeria and listeriosis: Hazard for pregnant.** 2ª edição. São Paulo: Ponto Crítico, 2007.
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n. 12. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10 janeiro 2001.
- CENTER FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preliminary Foodnet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through-food – 10 States, United States, 2005.
- CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Outbreak of invasive Listeriosis Associated with the consumption of hog head cheese – Louisiana- 2010. Disponível em: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6013a2.htm?s_cid=mm6013a2_w Acesso em: 11 ago. 2011.
- 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.
- FERRONATO, Andréia Inês. **Contaminação de carcaças e ambiente por Listeria spp. em diferentes etapas no abate de suínos.** 2010. 65f. Dissertação (Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente)-Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- FRANÇA, Leonardo. **Listeria spp. e Listeria monocytogenes em carne bovina refrigerada e embalada a vácuo, equipamentos e ambientes de matadouros-frigoríficos.** 2008. 93f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiás.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION OF U.S. (FDA). Disponível em <http://www.fda.gov/default.htm>. Acesso em 09 ago. 2011.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** 1º edição. São Paulo: Atheneu, 1996, p.46-50.
- 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.
- JAY, J. M. Listerioses de origem animal. In: **Microbiologia de alimentos.** 6ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005, cap. 25, p. 517-542.
- KASNOWSKI, Maria Carmela. **Listeria spp., Escherichia coli: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída.** 2004. 111f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.
- MANTILLA, S. P. S. **Listeria spp. em carne bovina pré-moída: isolamento, sorologia, sensibilidade das cepas aos antimicrobianos e relação com a presença de sulfito de sódio.** 2006, 114f. Dissertação (Mestrado em Higiene veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de origem animal) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.
- SABA, R. Z.; BURGUER, K. P.; ROSSI, O. D. Pressão e temperatura da água de lavagem na população microbiana da superfície de carcaças bovinas. **Ciência Rural**, v.40, n.9, 2010.
- SAKATE, R. I. *et al.* *Listeria monocytogenes* in kosher beef carcasses. In: **XV INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PROBLEMS OF LISTERIOSIS.** Uppsala, Suécia, 2004.
- SANTOS, Loreane Ana Guimarães. **Listeria monocytogenes em suínos abatidos: Subsídio sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle-APPCC.** 2003. 48f. Tese (*Magister Scientiae*)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- YUCEL, N.; CITAK, S.; GUNDOGAN, N. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw meat, **Indian Veterinary Journal**, v. 8\1, n. 11, p. 1192-1194, 2004.