

MONITORAMENTO DE *Listeria* spp. NO AMBIENTE DE PROCESSAMENTO DE CARNE BOVINA E EM CORTES FINAIS EMBALADOS A VÁCUO

WÜRFEL, Simone de Fátima Rauber¹; OLIVEIRA, Mauricéia Greici¹; GANDRA, Tatiane Kuka Valente¹; VECCHIA, Joline Dalla¹; 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 – Endereço eletrônico: simone_rauber@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As infecções alimentares representam um sério problema de saúde pública, pela frequência elevada, mortalidade e pelo grande número de micro-organismos que podem estar envolvidos em um surto epidêmico (FORTUNA; FRANCO, 2005). Entre as principais bactérias causadoras de infecções alimentares, destaca-se *L. monocytogenes*, que é o agente etiológico da listeriose, uma infecção grave (GHANDI; CHIKINDAS, 2007), que apresenta uma alta taxa de mortalidade (entre 20-30%) e a mais elevada taxa de internação hospitalar (90%) entre todos os agentes patogênicos de origem alimentar (ZHANG et al., 2004). Conforme o CDC (2011), estima-se que 1.600 pessoas fiquem gravemente doentes em consequência de listeriose a cada ano nos Estados Unidos e que dessas, 260 casos evoluam para óbito.

A enfermidade afeta, principalmente, idosos, mulheres grávidas, recém-nascidos e pessoas com o sistema imunológico debilitado. Indivíduos saudáveis raramente são acometidos pela doença, no entanto, quando infectados, podem apresentar febre, dores musculares, cefaléia, diarreia e outros sintomas gastrointestinais. A principal forma de infecção por *L. monocytogenes* em humanos é através do consumo de alimentos contaminados. Além disso, animais podem ser portadores assintomáticos da bactéria, podendo contaminar alimentos de origem animal como carne e leite (CDC, 2011).

As bactérias pertencentes ao gênero *Listeria* estão amplamente difundidas no ambiente, incluindo solo, água, efluentes e alimentos. Aliado a isso, a capacidade de sobreviver por longos períodos em condições adversas e se multiplicar em temperaturas de refrigeração, facilita sua disseminação no ambiente de produção e processamento de alimentos (GANDHI; CHIKINDAS, 2007). De acordo com o CDC (2011), a bactéria pode se instalar e persistir no ambiente de unidades processadoras de alimentos por longos períodos, podendo assim contaminar o produto final. Assim sendo, esse patógeno tornou-se uma grande preocupação para a indústria alimentícia (GANDHI; CHIKINDAS, 2007).

Com base no exposto, o objetivo desta pesquisa foi monitorar a ocorrência de *Listeria* spp. no ambiente de processamento de carne bovina, avaliando a influência deste micro-organismo na contaminação do produto final embalado a vácuo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A tomada de amostras foi realizada em um matadouro-frigorífico de bovinos localizado na região sul do Rio Grande do Sul, onde foram coletadas amostras provenientes do ambiente da sala de cortes: mesas (n=10), facas (n=10) e

mãos dos manipuladores (n=10), antes do início do processo e durante a execução das atividades de cortes. Além disso, durante as operações de abate dos animais, coletaram-se amostras da serra utilizada para abertura do esterno, antes da etapa de evisceração (n=5) e da serra empregada para divisão das carcaças (n=5), denominadas serras A e B, respectivamente.

As superfícies das mesas, facas e serras foram amostradas utilizando-se *swab* de algodão esterilizado, perfazendo uma área total de 25cm², segundo recomendações vigentes na Comunidade Européia (EC, 2007), com adaptações, que foram acondicionados em tubos contendo Half Fraser (Oxoid®). As mãos dos manipuladores foram amostradas pela técnica da lavagem superficial com 200mL de solução salina peptonada. Foram amostrados, ainda, 12 cortes cárneos bovinos embalados a vácuo: filé mignon (n=6) e alcatra (n=6), adquiridos em sua embalagem original. Acondicionadas em caixas isotérmicas, as 52 amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do DCTA/FAEM/UFPEL.

No laboratório, a amostragem dos cortes foi realizada em quatro pontos distintos com auxílio de esponjas e moldes de 100cm² estéreis, através da técnica de esfregaço em superfície (Esponjas 3M™), de acordo com as normas e recomendações preconizadas (EC, 2007). O conjunto de esponjas referente à amostragem de cada corte foi adicionado de 200mL de solução salina peptonada, e agitado em homogeneizador peristáltico tipo *Stomacher*. Em seguida, alíquotas de 40mL da amostragem dos cortes e das mãos dos manipuladores foram transferidas para tubos tipo Falcon e centrifugadas 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 recomendada pela ISO 11.290-1 (2004), com modificações. Da mesma forma, os *swabs* coletados do ambiente em caldo Half Fraser (Oxoid®) foram incubados a 30°C por 24h, segundo a metodologia proposta. Em seguida, uma alíquota foi transferida para caldo Fraser (Oxoid®) e incubada a 35°C por 48h. A semeadura foi realizada nos ágaros Oxford (Oxoid®) e Cromogênio (Oxoid®) a 35°C por 48h. Os isolados obtidos foram submetidos a testes fenotípicos de reação da catalase, motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e de verificação de β-hemólise.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se a ocorrência de *Listeria* spp. em 9 (22,5%) das 40 amostras de ambiente avaliadas, sendo 3 (7,5%) delas identificadas fenotipicamente como *L. monocytogenes* e 6 (15%), como *L. innocua*.

Listeria spp. não foi isolada das mãos dos manipuladores antes de iniciarem as atividades na sala de cortes, nem das serras A e B utilizadas durante o abate dos bovinos. Contudo, verificou-se sua presença nas demais amostras de ambiente, bem como nas mãos dos manipuladores durante o processamento dos cortes, conforme indicado na Tab. 1.

A taxa de isolamento de *Listeria* spp. verificada neste estudo em amostras provenientes do ambiente de processamento é semelhante à referida por Barros et al. (2004) que, ao analisarem amostras originárias de equipamentos/utensílios e instalações de plantas processadoras de carne bovina, isolaram *Listeria* spp. em 48 (33,70%) amostras, sendo *L. innocua* identificada em 33 (68,75%) amostras.

A presença desses micro-organismos no ambiente de processamento de carne também foi verificada por Nalério et al (2009), que avaliando a presença de *L.*

monocytogenes na cadeia produtiva de frangos no sul do Rio Grande do Sul, encontraram esse patógeno em 29,2% (7/24) das amostras representativas das superfícies que entram em contato com o alimento.

Análises dos cortes finais embalados a vácuo demonstraram a presença de *Listeria* spp. em 5 (41,7%) das 12 amostras, sendo a totalidade dos isolados classificados como *L. innocua*. Comparando-se a contaminação presente nos dois cortes avaliados, foi possível verificar que o filé apresentou maior percentual de isolamento desse micro-organismo em relação à alcatra, como demonstrado na Tab. 1.

Nesse mesmo sentido, Kasnowski (2004), avaliando a ocorrência de *Listeria* spp. em 30 amostras de alcatra bovina, obteve 173 isolados, sendo 121 caracterizados como *L. innocua*.

Tabela 1 - Ocorrência de *Listeria* spp. em cortes finais e no ambiente de processamento de carne bovina.

Origem (nº de amostras)	<i>Listeria</i> spp.	
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>
Mesa antes (5)	1	1
Mesa durante (5)	1	2
Faca antes (5)	1	1
Faca durante (5)	0	1
Mãos antes (5)	0	0
Mãos durante (5)	0	1
Serra A (5)	0	0
Serra B (5)	0	0
Filé Mignon (6)	0	3
Alcatra (6)	0	2
TOTAL (52)	3	11

antes: amostragem antes do início do processamento; durante: amostragem durante a execução dos cortes.

O isolamento de *L. innocua* das mãos dos manipuladores durante as operações de corte, infere que estes são carreadores potenciais desse micro-organismo, podendo ser responsáveis por contaminações recorrentes no produto final. Além disso, a presença da bactéria nos cortes finais corrobora essa informação, denotando a ocorrência de contaminação cruzada no ambiente de processamento.

Conforme Kasnowski (2004), apesar de apenas *L. monocytogenes* ser patogênica para humanos, a identificação de outras espécies de *Listeria* no alimento é um indicativo de sua presença. Desta forma, o isolamento de *L. innocua* verificado neste estudo não deve ser subestimado, tendo em vista que indica a potencial presença de *L. monocytogenes*.

De acordo com Borch et al. (1996), no momento da divisão da carcaça pode ocorrer a transferência de bactérias da incisão retal e da cabeça para a carcaça, oferecendo assim, risco de contaminação devido ao contato com conteúdo gastrointestinal e oral esofágico. Contudo, neste estudo, verificou-se que nas serras avaliadas não houve presença de *Listeria* spp.

4. CONCLUSÃO

A ocorrência de *Listeria* spp. no ambiente de processamento de carne bovina desperta grande preocupação, pois representa risco ao consumidor. Além disso, a presença do micro-organismo nos utensílios que entram em contato direto com os cortes finais e também nas amostras de filé e alcatra, denota a ocorrência de contaminação cruzada no ambiente de processamento e a influência deste na contaminação do produto final.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/MAPA pelo apoio financeiro, a CAPES e FAPERGS pela concessão de bolsas de estudo, e a Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio do Rio Grande do Sul (SEAPA/RS) pela colaboração na realização das coletas.

6. REFERÊNCIAS

- BARROS, M. A. F.; BELOTI, V.; HAGA, M. M.; CAVALETTI, L.; OVÍDIO, L.; MONTEIRO, F. A.; NERO, L. A. *Listeria* spp. ocorrência em equipamentos e ambientes de processamento de carne bovina. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 341-348, out./dez, 2004.
- BORCH, E.; NESBAKKEN, T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.30, p.9-25, 1996.
- CDC – Centers for Disease Control and Prevention - National Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases. **Listeriosis. General Information**. Disponível em < <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/listeriosis/>>. Acesso em 15 de agosto de 2011.
- COMMISSION REGULATION (EC) No 1441/2007. amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, 18p., 5 December 2007.
- FORTUNA, J.L.; FRANCO, R. M. Pequeno dossiê epidemiológico da *Salmonella*, como causadora de infecções alimentares. *Higiene Alimentar*, v.19, n.128, p.33-44, 2005.
- GANDHI, M.; CHIKINDAS, M.L. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal Food Microbiology**, v.113, p.1-15, 2007.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO 11.290-1). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes* spp., 1th ed, 2004.
- KASNOWSKI, M.C. *Listeria* spp., *Escherichia coli*: Isolamento, identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída. 2004. 111 f. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- NALÉRIO, E.S.; ARAÚJO, M.R.; MENDONÇA, K.S.; BASSANI, M.T.; SILVA, W.P. *Listeria monocytogenes*: monitoramento desse perigo biológico na cadeia produtiva de frangos do sul do Rio Grande do Sul. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 3, vol. 29, p. 626-630, Julho/Setembro, 2009.
- ZHANG, W.; JAYARAO, B. dM. an KNABEL, S. J. Multi-Virulence-Locus Sequence Typing of *Listeria monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 2, p. 913–920, 2004.