

OCORRÊNCIA DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM UTENSÍLIOS E AMBIENTE DE MANIPULAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS DE AÇOGUES DE VIÇOSA, MG

Danilo Augusto Lopes da Silva¹, Luís Augusto Nero²

Resumo: *Listeria monocytogenes* é um patógeno de origem alimentar, causador da listeriose, doença grave com alta taxa de letalidade relacionada à ingestão de alimentos cárneos contaminados. Este trabalho avaliou a presença de *Listeria monocytogenes* em utensílios e ambiente de manipulação de produtos cárneos em açougues de Viçosa, MG. Trinta e duas amostras de cada utensílio foram obtidas em quatro açougues e submetidas à pesquisa de *Listeria monocytogenes* (metodologia ISO 11290-1) e confirmadas por testes bioquímicos e pesquisa de genes relacionados à sorotipificação e virulência. Contudo, 133 amostras foram positivas para *Listeria* spp. e 48 para *L. monocytogenes*, sendo oito amostras oriundas de mesa, cinco de mãos e gôndola de refrigeração, oito de faca e 11 de amaciador e moedor. Um total de 103 isolados de *L. monocytogenes* foram obtidos. Desses, 21 foram caracterizados como sorogrupo IVb; e 66, como IIc; 16 isolados apresentaram um perfil atípico. Todos os isolados de *L. monocytogenes* foram positivos para os genes *hlyA*, *iap* e *plcA*; 83, para *actA*. Para o grupo das internalinas todos isolados foram positivos. Esses resultados demonstraram a propagação de *L. monocytogenes* no ambiente de processamento de produtos cárneos e utensílios, enfatizando a importância desses pontos como fontes de contaminação. Os isolados com perfis considerados atípicos para caracterização sorológica sugerem transferência horizontal de material genético entre os microrganismos.

Palavras-chave: Carne; listeriose; e segurança-alimentar.

Introdução

Listeria monocytogenes é um importante patógeno associado a doenças causadas por ingestão de alimentos contaminados; entre esses, os produtos de origem animal. Os consumidores mais susceptíveis a esse microrganismo são

¹Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFV. E-mail: daniloaugustol@yahoo.com.br.

⁵Coordenador da Pós-graduação do Curso de Medicina Veterinária da UFV. E-mail: nero@ufv.br.

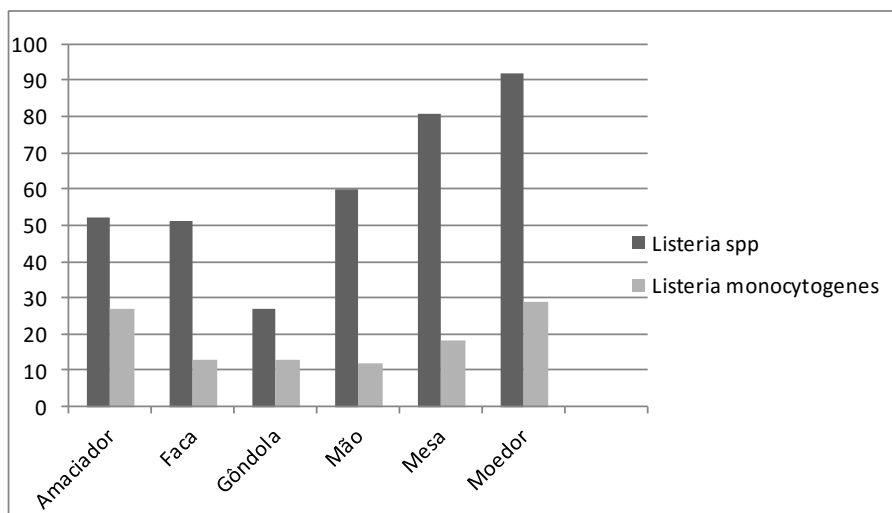
gestantes, recém-nascidos, idosos e pessoas imunodeprimidas, estando relacionados a casos graves de listeriose e até mesmo à morte (GHANDI & CHIKINDAS, 2007). Contaminação cruzada entre o alimento e os utensílios utilizados no beneficiamento desses produtos é considerada importante rota de contaminação e de elevado risco para a saúde pública (ILSI, 2005). O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Listeria monocytogenes* em utensílios e ambiente de manipulação de produtos cárneos em açougues localizados em Viçosa, MG.

Material e Métodos

Trinta e duas amostras de cada utensílio (amaciador, faca, gôndola refrigerada, mão, mesa, moedor) foram coletadas em quatro açougues, por *swabs* de superfície de 100 cm², que foram acondicionados em bolsas plásticas estéreis. A cada bolsa plástica, foram adicionados 100 mL de solução salina peptonada, sendo a mistura homogeneizada em *Stomacher*. As amostras foram submetidas à pesquisa de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes*, conforme metodologia ISO 11290-1. Uma alíquota de 40 mL da suspensão obtida conforme a amostragem citada anteriormente foi centrifugada, e o sedimento foi ressuspenso em caldo Half Fraser, incubado a 30 °C/24h. Logo após, realizou-se semeadura em placas de ágar ALOA e ágar Oxford, incubadas a 37 °C/48h. Uma alíquota de 0,1mL foi transferida para tubo contendo 10 mL de Fraser e incubados a 37 °C/24h. Posteriormente, foi realizada semeadura em placas ágar ALOA e ágar Oxford, incubadas 37 °C/48h. As colônias características foram submetidas às provas bioquímicas para produção de catalase, motilidade, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol), produção de β-hemólise, e, em seguida, classificadas. Os isolados foram submetidos a um Multiplex PCR (DOUMITH, 2004) para identificar os genes *lmo1118*, *lmo0737*, *ORF2110*, *ORF2819* e *prs*. Considerando os diferentes perfis de positividade, os isolados foram classificados em diferentes sorogrupos. Posteriormente, esses foram submetidos a reações de PCR para identificar os genes de virulência *actA*, *hlyA*, *iap* e *plcA* (RAWOOL, 2007) e o grupo das internalinas (*inlA*, *inlB*, *inlC* e *inlJ*) (LIU, 2007).

Resultados e Discussão

Foram obtidas 133 amostras positivas para *Listeria* spp. Depois dos testes bioquímicos e confirmação molecular, 48 amostras foram positivas para *L. monocytogenes*, sendo oito amostras positivas oriundas de mesa; cinco positivas, de mãos e gôndola de refrigeração; oito, de faca; e 11, de amaciador e moedor. A frequência de isolados de *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* positivos para cada ponto (ambiente e utensílios) estão representados na Figura 1.



Figural1: Frequência de isolados positivos para *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* para cada ponto.

Um total de 103 isolados de *L. monocytogenes* foram identificados. Desses, 81 foram positivos para *lmo1118* e *lmo0737*; 39, isolados positivos para *ORF2110*; 36, isolados positivos para *ORF2819*; e 103, isolados positivos para gene *prs*. Em seguida, 21 isolados foram caracterizados como sorogrupo IVb; e 66, como sorogrupo IIc. Dezesesseis isolados apresentaram um perfil atípico, que amplificou todos os genes-alvo (*lmo1118* (+), *lmo07379* (+), *ORF2110* (+),

ORF2819 (+) e *prs* (+)), sugerindo a transferência horizontal de genes. Todos os isolados de *L. monocytogenes* (103) foram positivos para os genes *hlyA*, *iap* e *plcA*; 83, isolados positivos para o gene *actA*. Para o grupo de internalinas (*inlA*, *inlB*, *inlC* e *inlJ*), todos os isolados foram positivos. O isolamento de cepas patogênicas nos produtos cárneos também foi observado em trabalhos realizados no Reino Unido, França e muitos locais dos Estados Unidos (SWAMINATHAN, 2007). A contaminação pós-processamento é a causa mais frequente do contágio de alimentos, tanto por contaminação cruzada, que pode ocorrer dentro da própria indústria, quanto por contaminação no ponto de distribuição ou venda do produto (CATÃO & CEBALLOS, 2001). Esses resultados demonstraram a propagação de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* no ambiente de processamento de produtos cárneos e utensílios, enfatizando a importância desses pontos como fontes de contaminação desse patógeno. Adicionalmente, foram identificados isolados com perfis de amplificação de genes considerados atípicos para caracterização sorológica, sugerindo transferência horizontal de material genético entre os microrganismos.

A identificação das rotas de contaminação em uma cadeia produtiva de alimentos possui relevância epidemiológica indiscutível. Pela identificação precisa das principais fontes de contaminação, é possível a adoção de procedimentos de higienização e o controle adequado para minimizar os riscos de contaminação em produtos finais, interrompendo o ciclo dos patógenos envolvidos. É necessário o conhecimento do nível de contaminação por cepas patogênicas de *Listeria* spp. em produtos cárneos destinados ao consumo humano, assim como a investigação das potenciais fontes de contaminação em ambientes de processamento de produtos cárneos.

Conclusão

As informações obtidas permitiram o estabelecimento de procedimentos adequados de controle e disseminação desses patógenos nas etapas finais da cadeia produtiva da carne, com reflexos evidentes na inocuidade dos produtos cárneos destinados ao consumo humano.

Referências Bibliográficas

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. ***Listeria* spp., Coliformes Totais e Fecais e *E.Coli* no Leite Cru e Pasteurizado de uma Indústria de Laticínios no Estado da Paraíba.** 2001.281-282p. Dissertação de Mestrado. Paraíba: UFPB.

DOUMITH, M., BUCHRIESER, C., GLASER, P., JACQUET, C., MARTIN, P. Differentiation of the Major *Listeria monocytogenes* Serovars by Multiplex PCR. **Journal of Clinical Microbiology**,42(8):3819-22, 2004.

GANDHI, M., CHIKINDAS, M. *Listeria*: a foodborne pathogen that know to survive.**International Journal of Food Microbiology**. v. 113, p. 1-15, 2007.

ILSI RESEARCH FOUNDATION/RISK SCIENCE INSTITUTE, EXPERT PANEL ON *Listeria monocytogenes* IN FOODS. Achieving Continuous Improvement in Reductions in Foodborne Listeriosis—A Risk-Based Approach. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 9, p. 1932–1994, 2005.

LIU, D.; LAWRENCE, M.L.; AUSTIN, F.W.; AINSWORTH, A.J. A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Microbiological Methods**, v.71, p.133–140, 2007.

RAWOOL, D.B.; MALIK, S.V.S.; BARBUDDHE, S.B.; SHAKUNTALA, I.; AURORA, R. A Multiplex PCR for Detection of Virulence Associated Genes in *Listeria monocytogenes*. Internet **Journal of Food Safety**, v.9, p. 56-62, 2007.

SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis.**Microbes and Infection**, v. 9, p. 1236-1243, 2007.

