

PESQUISA DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* EM CORTES DE CARNE BOVINA EMBALADOS A VÁCUO COMERCIALIZADOS NA CIDADE DE PELOTAS - RS

FLÁVIA LIÉGE SCHÜTZ VOLOSKI¹; LAÍS TONELLO¹; TASSIANA RAMIRES¹;
DANIEL SÁVIO¹; RITA CONCEIÇÃO¹; EDUARDA HALLAL DUVAL²

^{1,2}Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal
Faculdade de Veterinária - Departamento de Veterinária Preventiva
Universidade Federal de Pelotas – Pelotas, RS – Brasil
fla_voloski@hotmail.com / eduardahd@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A carne é considerada um meio propício à proliferação microbiana devido a sua atividade de água relativamente elevada, quantidade significativa de proteínas e carboidratos, dentre outros nutrientes, o que contribui para o crescimento de uma flora microbiana bastante diversificada, que inclui micro-organismos deteriorantes e patogênicos (CARVALHO; FRANCO; FILHO, 2012; NAIDOO; LINDSAY, 2010).

Muitos agentes patogênicos pertencem à microbiota natural dos animais de corte, podendo contaminar as carcaças durante o abate. Estes agentes também podem ser transportados do ambiente contaminado para as carcaças através dos manipuladores, utensílios e pela água (SAMULAK et al., 2011). O tipo e o número de micro-organismos presentes na carne refletem não só o grau de sanitização do abatedouro, como também as condições de armazenamento, transporte e comercialização, o que define naturalmente a sua qualidade (MARRA, 2009).

O desenvolvimento de tecnologias de embalagens a vácuo tem prolongado o tempo de armazenamento de carnes refrigeradas (BRIGHTWELL et al., 2009). As embalagens a vácuo em combinação com a refrigeração produzem um ambiente onde desenvolvem-se apenas micro-organismos capazes de crescer em baixas temperaturas e na ausência de oxigênio, como os psicrotóxicos, que incluem espécies patogênicas, como a *Listeria monocytogenes* (JONES et al., 2008).

Listeria monocytogenes é a única espécie, dentre as seis do gênero, capaz de causar doenças em humanos (EL-MALEK et al., 2010). É um bacilo gram positivo, psicrotóxico, não esporulado, anaeróbio facultativo, que possui flagelos peritríquios e apresenta ampla distribuição na natureza, por isso, contamina com frequência alimentos durante a sua produção ou processamento (IRKIN; ESMER, 2010). Por possuir características psicrotóxicas, diferentemente de outros agentes patogênicos, *Listeria monocytogenes* tende a multiplicar-se em alimentos refrigerados (BARROS et al., 2004).

São poucos os relatos de listeriose em nosso país, os quais nunca foram associados com alimentos, sendo a doença subdiagnosticada e subnotificada. A doença apresenta alta taxa de mortalidade e baixa dose infectante, podendo a infecção ser inaparente ou apresentar as formas clínicas de meningite e encefalite, aborto ou natimortos e septicemia, sendo os recém-nascidos, idosos, imunodeprimidos, mulheres grávidas, portadores de neoplasias malignas, diabéticos, doentes renais e os que utilizam glicocorticosteróides os mais suscetíveis à infecção (FERREIRA, 2008).

Tendo em vista que a Legislação Brasileira (BRASIL, 2001) preconiza a ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 g de amostras de carnes e seus subprodutos, e que há poucos trabalhos, no Brasil, associando este micro-organismo a produtos cárneos embalados a vácuo, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença ou ausência de *Listeria monocytogenes* em cortes de carne bovina embalados a vácuo comercializados na cidade de Pelotas – RS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi feita a partir de 27 amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo, de diferentes marcas, adquiridos no comércio local da cidade de Pelotas - RS.

Para o isolamento do patógeno, foi utilizada a metodologia preconizada pela Instrução Normativa número 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O enriquecimento seletivo primário (ESP) foi feito a partir da homogeneização de 25 g da amostra em 225 mL de caldo UVM e incubação a 30° C por 24 horas. Em seguida, transferiu-se 0,1 mL do ESP para um tubo de ensaio contendo 10 ml de caldo Fraser suplementado com citrato de amônio e ferro III, na etapa denominada enriquecimento seletivo secundário (ESS), o qual foi incubado a 30°C por 48 horas. A etapa de isolamento foi feita para todas as amostras que apresentaram turvação no ESS, do qual uma alíquota obtida com alça de platina foi semeada por técnica de esgotamento em placas de ágar Palcam e ágar Oxford, as quais foram incubadas por 48 horas a 30°C. Foram selecionadas 3 colônias isoladas das placas que apresentaram crescimento característico, ou seja, colônias verde-acinzentadas ou verde-amareladas rodeadas por halos escurecidos em ágar Palcam, e colônias enegrecidas com halo escuro em ágar Oxford. Cada uma das colônias selecionadas foi semeada em tubo contendo ágar TSA inclinado, o qual foi incubado a 30°C por 24 horas. Para a confirmação da presença de *Listeria sp.*, foram realizados o teste da catalase (com peróxido de hidrogênio a 3%) e coloração de gram; as culturas catalase-positivas e na forma de coco-bacilos e bacilos curtos gram-positivos foram submetidas à prova da motilidade em ágar SIM (mantido em temperatura ambiente por 2-5 dias) e à verificação da capacidade de fermentação dos carboidratos ramnose, xilose e manitol em tubos de ensaio que foram incubados a 30°C por 36 horas. A fermentação da ramnose associada a não fermentação da xilose e do manitol, bem como o crescimento típico em formato de guarda-chuva indicam a presença de *Listeria monocytogenes*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Das 27 amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo, não foi detectada a presença de *L. monocytogenes* em nenhuma das amostras, o que indica qualidade higiênico-sanitária satisfatória nos frigoríficos-abatedouros responsáveis pelas diferentes marcas adquiridas no comércio, bem como condições de armazenamento e refrigeração adequadas durante a comercialização.

Esse resultado vai ao encontro do obtido por Würfel et. al (2011), que, ao analisar 12 amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo, não detectou a presença de *L. monocytogenes* em nenhuma das amostras. No entanto, em 5 (41,7%) das 12 amostras de cortes finais embalados a vácuo, foi detectada a

presença de *Listeria* spp., sendo a totalidade dos isolados classificados como *L. innocua*, o que, segundo os autores, não pode ser subestimado, já que a indicação de outras espécies de *Listeria* no alimento pode ser um indicativo da presença de *L. monocytogenes*.

Já França (2008), ao analisar 30 amostras de cortes de carne bovina embalados a vácuo, provenientes do fim da linha de desossa de frigoríficos-matadouros localizados em diferentes Estados do Brasil, detectou a presença de *L. monocytogenes* em 4 amostras, o que representa 13,33%, enquanto 26 amostras foram negativas, totalizando 86,67%.

Sakate et. al (2003), analisando 45 amostras de vários tipos de salame fatiado embalados a vácuo e mantidos sob refrigeração, adquiridos do comércio varejista de São Paulo – SP, detectou a presença de *L. monocytogenes* em 3 (6,7%) das amostras analisadas.

De um modo geral, com a finalidade de prevenir a infecção por *L. monocytogenes*, é necessária a implementação de rígidos controles nos locais de processamento de alimentos. A implementação de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Programas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) pode ser muito importante para minimizar ou prevenir a contaminação por *Listeria* sp. Além disso, a realização de monitoramento dos produtos cárneos e do seu ambiente de industrialização pode contribuir com o controle das *Listeria* sp. (FRANÇA, 2008).

Apesar de terem sido obtidos resultados satisfatórios quanto à presença/ausência de *Listeria monocytogenes* nos cortes de carne bovina embalados a vácuo comercializados na cidade de Pelotas - RS, o número de amostras (n=27) analisadas ainda é baixo. Logo, para a obtenção de conclusões mais efetivas sobre a presença/ausência desse micro-organismo nesses tipos de produtos, torna-se necessário o aumento do número de amostragem.

4. CONCLUSÕES

A ausência de *Listeria monocytogenes* nos cortes de carne bovina embalados a vácuo analisados indica que, de acordo com a Legislação vigente em nosso país, estes se encontram aptos para o consumo, e que os programas de autocontrole implantados no seu processamento permitem a não contaminação do produto

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, M. A. F. *Listeria* spp.: ocorrência em equipamentos e ambientes de processamento de carne bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 4, p. 341-348, out./dez. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 2 de agosto de 2012.

BRIGHTWELL, G.; CLEMENS, R.; ADAM, K.; URLICH, S.; BOEREMA, J. Comparison of culture-dependent and independent techniques for characterization of the microflora of peroxyacetic acid treated, vacuum-packaged beef. **Food Microbiology**. n. 26 p. 283-288, 2009.

- CARVALHO, L. R. de; FRANCO, R. M.; FILHO, J. R. de F. Mapeamento de riscos microbiológicos no processo produtivo da carne bovina em uma unidade de alimentação e nutrição. **Demetra: Nutrição e Saúde**. 7(1), p. 23-28, 2012.
- EL- MALEK, A. M. A; ALI, S. F. H.; HASSANEIN, R.; ABDELAZEEM, M. M.; ELSAYH, K. I. Occurrence of *Listeria* species in meat, chicken products and human stools in Assuit city, Egypt, with PCR use for rapid identification of *Listeria monocytogenes*. **Veterinary World**. v.3 (8), p. 353-359, 2010.
- FRANÇA, L. ***Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em carne bovina refrigerada e embalada a vácuo, equipamentos e ambientes de matadouros-frigoríficos**. 2008. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás.
- IRKIN, R.; ESMER, O. K. Control of *Listeria monocytogenes* in ground chicken breast meat under aerobic, vacuum modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of bay essential oil at 4oC. **Food Science Technology**. 16 (4), p. 285-290, 2010.
- JONES, R. J.; HUSSEIN, H. M.; ZAGOREC, M.; BRIGHTWELL, G.; TAGG, J. R. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. **Food Microbiology**. n. 25, p. 228-234, 2008.
- MARRA, K. N. **Dinâmica da carga microbiana da sala de desossa em um matadouro – frigorífico de Goiânia – GO, durante a jornada de trabalho**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). 2009. Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
- NAIDOO, K.; LINDSAY, D. Survival of *Listeria monocytogenes*, and enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pasteurii*, during two types of biltong-manufacturing processes. **Food Control**. n. 21, p. 1042-1050, 2010.
- SAKATE, R. I.; ARAGON, L. C.; RAGHIANTE, F.; LANDGRAF, B.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 53, n.2, jun. 2003.
- SAMULAK, R. L.; ZANETTI, G. F.; RODRIGUES, S. A.; BITTENCOURT, J. V. M. Condição higiênico-sanitária de abatedouro frigorífico e fábrica de embutidos no estado do Paraná. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). v. 05, p. 408-417, 2011.
- WÜRFEL, S. de F. R.; OLIVEIRA, M. G.; GANDRA, T. K. V.; VECHIA, J. D.; SILVA, W. P. **Monitoramento de *Listeria* spp. no ambiente de processamento de carne bovina e em cortes finais embalados a vácuo**. XX Congresso de Iniciação Científica – CIC. Universidade Federal de Pelotas, 2011.