

## PRESEÇA DE CEPAS DE *Listeria* PATOGENICA EM LINGUÇA FRESAL DE CARNE SUINA, COMERCIALIZADA EM SUPERMERCADOS DE GOIÂNIA, GOLÁS.

Alvaro Bisol Serafini\*

### RESUMO

Observou-se a presença de 5 (11,9%) amostras contendo cepas de *Listeria monocytogenes* pertencentes ao sorotipo 4b, em 42 amostras de linguça fresal de carne suina, comercializadas em supermercados da cidade de Goiânia. A patogenicidade foi verificada e confirmada, nas amostras positivas, quando foram submetidas ao teste de Anton. Este percentual de amostras patogênicas evidencia o problema da possível veiculação de *Listeria* ao consumidor, por alimentos.

UNITERMOS: Linguça de carne suina, presença, *Listeria* patogênica.

### INTRODUÇÃO

Uma ampla variedade de carnes são contaminadas com *Listeria monocytogenes*, desde carne suina moída e alguns de seus derivados (SCHMIDT et alii, 1988), linguças frescas, defumadas e desidratadas (NICOLAS & VIDAUD, 1987), carne bovina moída (SKOVGAARD & MORGAN, 1988), salame (CANTONI et alii, 1989; TRUSSEL, 1989), presunto (BREER & SCHOPFER, 1988), carne de frango (PINI & GILBERT, 1988), carne de peru (GENIGEORGIS et alii, 1990), patê (MORRIS & RIBEIRO, 1989), salsichas de cachorro quente (BARNES, et alii, 1989) e "nuggets" de frango (KACZMARSKI & JONES, 1989), com grande incidência de contaminação.

Segundo FARBER & PETERKIN (1991) esta variação pode ser parcialmente creditada às diferenças existentes nas metodologias de detecção: método

\* Prof. Adjunto do IPTSP/UFG. Dept.º de microbiologia.

SERAFINI, A. B. Presença de cepas de *Listeria* patogênica em linguiça fresca de carne suína, comercializada em supermercados de Goiânia, Goiás. Rev. Pat. Trop. 22(1):17-22, jan./jun. 1993.

utilizado, tamanho de amostragem, número de colônias isoladas tomadas para confirmação e procedência das amostras.

O sorotipo 1 é o de maior distribuição mundial em carnes, com exceção das amostras envolvidas em surtos de listeriose, onde ocorre com maior frequência o sorotipo 4b (MORRIS & RIBEIRO, 1989; FARBER & PETERKIN, 1991).

A metodologia mais empregada em termos de produtos cárneos é a preconizada pelo "UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA)" (McCLAIN & LEE, 1988; DESTRO et alii, 1992). Constituindo-se o ágar LPM no ágar de eleição para carnes, onde os resultados falso-negativos são menores.

Apesar de a maioria destes produtos alimentares exigir a recomendação da armazenagem em temperatura de refrigeração, vários pesquisadores têm observado o crescimento de *L. monocytogenes* em temperaturas de 3 a 5°C (YOSEF & MARTH, 1988; GLASS y DOYLE, 1989; SHELEF, 1989), sendo que WALKER et alii (1990) afirmaram que a menor temperatura que permitiu o crescimento da bactéria, em alimentos, foi de -0,4°C.

O objetivo deste experimento foi o de observar a presença de cepas patogênicas, portanto capazes de produzir surtos alimentares, em linguiça de carne suína à nível de varejo, na cidade de Goiânia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostras

Foram adquiridas 42 amostras de linguiça fresca de carne suína, entre agosto de 1989 e março de 1990, de qualquer marca, comercializadas em supermercados da cidade de Goiânia.

As amostras eram analisadas assim que chegassem ao laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Departamento de Microbiologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG. Através de uma abertura no envoltório, com auxílio de bisturi e pinça esterilizados, retirava-se do seu interior, 25g de amostra, homogeneizando-se com 225ml de caldo de enriquecimento primário/(Caldo de enriquecimento seletivo - Difco [Num. 0222-17-13]). Após incubação a 30°C por 24 horas, colhia-se 1ml que era adicionado a 10ml de caldo de enriquecimento secundário (caldo de enriquecimento com a mesma formulação do de enriquecimento primário, exceto que no secundário a quantidade de acriflavina é de 25g), seletivo para listeria, incubando-se com mesmo tempo e temperatura.

SERAFINI, A. B. Presença de cepas de *Listeria* patogênica em linguiça fresca de carne suína, comercializada em supermercados de Goiânia, Goiás. Rev. Pat. Trop. 22(1):17-22, jan./jun. 1993.

### Identificação da *Listeria*

Seguia-se após o enriquecimento de duplo estágio, o plaqueamento seletivo em ágar LPM/(Ágar LPM - Difco [Num. 0221-17-41]) (cloreto de lítio + feniletanol + moxalactâmico) (LEE & McCLAIN, 1986). Após incubação a 30°C por 24-48 horas, três colônias que eram consideradas presuntivamente positivas para *Listeria*, eram tomadas e estriadas em ágar soja tríptico adicionado de extrato de levedura (TSA-YE)/(Ágar TSA - Difco [Num. 0369-01-4]) (Extrato de levedura - Difco [Num. 0127-01-7]) para purificação. Após incubação por 24 horas a 30°C, com auxílio da técnica da transiluminação, as colônias com coloração "azul esverdeada" típica eram investigadas para os seguintes testes: coloração de Gram, motilidade típica, catalase, oxidase, esculina, produção de ácido e H<sub>2</sub>S no ágar tríptico açúcar ferro. Culturas que forneceram reações típicas nestes testes foram consideradas como pertencentes ao gênero *Listeria*.

Para a identificação da espécie foram utilizados os seguintes testes: redução do nitrato, vermelho de metila e Voges-Proskauer, ácido a partir da ramnose, glicose, xilose, manitol e maltose; prova da produção da hemólise, com 5% de sangue de cavalo e o fator de CAMP, em ágar TSA adicionando-se 5% de sangue desfibrinado de carneiro, semeava-se uma cepa de *Staphylococcus aureus* produtor de beta-hemolisina e em posição oposta uma estria de *Rhodococcus equi*, com as cepas suspeitas de *L. monocytogenes* dispostas paralelamente entre si e perpendiculares às de *S. aureus* e *R. equi* (LOVETT et alii, 1987).

Os testes sorológicos para caracterização definitiva em espécie e sorotipo/sorovar seguiu as recomendações de SEELIGER & HOHNE (1979) e ROCOURT et alii (1983).

A patogenicidade foi verificada pela instilação das culturas de 24 horas em caldo, no saco conjuntival de cobaias (Teste de Anton).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na interpretação dos resultados, as cepas isoladas foram identificadas bioquímica e sorologicamente como *Listeria monocytogenes* pertencentes ao sorotipo 4b. Esta identificação revelou que as 5 (11,9%) amostras de linguiça fresca de carne suína estavam contaminadas por cepas de listeria patogênicas para cobaias. Não foi observada a presença de outras espécies de bactérias do gênero *Listeria*, com exceção de *L. innocua* em 11 (26,1%) amostras.

A análise bioquímica das cepas isoladas em ágar LPM e purificadas em ágar TSA-YE, revelou, como indicaram GROVES & WELSSHIMERI (1977), que

SERAFINI, A. B. Presença de cepas de *Listeria* patogênica em linguiça fresca de carne suína, comercializada em supermercados de Goiânia, Goiás. Rev. Pat. Trop. 22(1):17-22, jan./jun. 1993.

os isolamentos que acidificavam a xilose e forneciam prova de CAMP negativas eram apatogênicas, e aquelas que não acidificavam a xilose e eram CAMP positivas, eram patogênicas; e que todos os isolamentos patogênicos, exceto um, fermentaram a ramnose. Aquelas que revelaram xilose negativa, CAMP-positiva e fermentavam a ramnose eram cepas de *L. monocytogenes* e que através de testes de sorotipagem rápida, pertenciam ao sorotipo 4b. As cepas com resultado inverso, isto é, xilose positiva, teste de CAMP-negativo e que não fermentavam, de maneira geral, a ramnose mostraram ser cepas de *L. innocua*.

ANTON (1934) ponderou que o único meio corrente aceitável para a determinação da patogenicidade de um isolamento de *L. monocytogenes* é pela inoculação de um animal com o organismo teste.

AUDURIER et alii (1980) afirmaram que as cepas não hemolíticas não são patogênicas para camundongos e que não causam ceratoconjuntivite em cobaias.

Para LATTMANN et alii (1989) um meio prático de confirmar a patogenicidade da *L. monocytogenes* é pela inoculação da cepa em ovos embrionados de galinha. Observaram que 100% das cepas deste organismo, isoladas de amostras de queijo e de humanos, mataram os embriões de pinto e que a *L. innocua*, isolada de queijo, matou somente 17% dos embriões infectados.

As cinco cepas isoladas pertencentes ao sorotipo 4b de *L. monocytogenes*, e que estão envolvidas na maioria dos casos e surtos de listeriose de origem alimentar, foram inoculadas nos sacos conjuntivais de cobaias e produziram ceratoconjuntivite purulenta entre 1 e 5 dias após a inoculação.

Do ponto de vista de Saúde Pública, as cepas detectadas, de *L. monocytogenes*, pertencentes ao sorotipo 4b e patogênicas para cobaias, evidenciam que o consumidor não estará livre de contrair listeriose, por veiculação alimentar, se não se precaver contra sua presença nos alimentos. Este percentual de 11,9% requer especial atenção, visto que muitos locais, como bares e restaurantes, submetem este tipo de alimento a um tratamento térmico subletal à bactéria.

#### SUMMARY

##### Presence of pathogenic strains of *Listeria* in fresh pork sausages, vended in supermarkets of Goiânia, Goiás, Brasil.

In 42 samples of fresh pork sausages, vended in supermarkets of Goiânia city, we observed five (11,9%) of them containing strains of 4b serotype *Listeria monocytogenes*. The pathogenicity was tested and confirmed, in positive samples,

SERAFINI, A. B. Presença de cepas de *Listeria* patogênica em linguiça fresca de carne suína, comercializada em supermercados de Goiânia, Goiás. Rev. Pat. Trop. 22(1):17-22, jan./jun. 1993.

when were submitted to the Anton test. This level of pathogenic samples show and link the problem of a possible *Listeria* vehiculation to the food consumer, by foods.

KEYWORDS: Fresh pork sausages, presence, pathogenic *Listeria*.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTON, W. Kritisch-experimenteller Beitrag zur Biologie des *Bacterium monocytogenes*. Mit besonderer Berücksichtigung seiner Beziehung zur infektiösen Mononucleose des Menschen. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig., 131:89-103, 1934.
- AUDURIER, A.; PARDON, P.; MARLY, J. & LANTIER, F. Experimental infection of mice with *Listeria monocytogenes* and *L. innocua*. Ann. Microbiol. (Paris), 1318:47-57, 1980.
- BARNES, R.; ARCHER, P.; STRACK, J. & ISTRE, G. R. Listeriosis associated with consumption of turkey franks. Morbid. Mortal. Weekly Rep., 38:267-268, 1989.
- BREER, C. & SCHOPFER, K. Listeria and food. Lancet, ii:1022, 1988.
- CANTONI, C.; VALENTI, M. & COMI, G. *Listeria monocytogenes* nei salumifici e nei prodotti di salumeria. Ind. Aliment., 28:605-610, 1989.
- DESTRO, M. T.; SERRANO, A. M. & KABUKI, D. Y. Comparison of two plating media for the isolation of *Listeria* sp. from some brazilian dairy and meat products. Rev. Microbiol., São Paulo, 23:211-216, 1992.
- FARBER, J. M. & PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. Microbiol. Rev., 55:476-511, 1991.
- GENIGEORGIS, C. A.; OANCA, P. & DUTULESCU, D. Prevalence of *Listeria* sp. in turkey meat at the supermarket and slaughterhouse level. J. Food Prot., 53:282-288, 1990.
- GLASS, K. A. & DOYLE, M. P. *Listeria monocytogenes* in processed meat products during refrigerated storage. Appl. Environ. Microbiol., 55:1565-1569, 1989.
- GROVES, R. D. & WELSHIMERI, H. J. Separation of pathogenic from apathogenic *Listeria monocytogenes* by three in vitro reactions. J. Clin. Microbiol., 5:559-563, 1977.
- KACZMARSKI, E. B. & JONES, D. M. Listeriosis and ready-cooked chicken. Lancet, i:549, 1989.

12. LATTMANN, C.; SCHWARZKOPF, A. & SEELIGER, H. P. R. Pathogenicity resting of *Listeria* strains isolated from food in fertilized hen's eggs. Zbl. Bakt. Hyg. A, 270:400-405, 1989.
13. LEE, W. H. & McCLAIN, D. Improved *Listeria monocytogenes* selectiv agar. Appl. Environ. Microbiol., 52:1215-1217, 1986.
14. LOVETT, J.; FRANCIS, D. W. & HUNT, J. M. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence and pathogenicity. J. Food Prot., 50:188-192, 1987.
15. McCLAIN, D. & LEE, W. H. Development of USDA-FSIS method for isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 71:660-664, 1988.
16. MORRIS, I. J. & RIBEIRO, C. D. *Listeria monocytogenes* and patê. Lancet ii:1285-1286, 1989.
17. NICOLAS, J. A. & VIDAUD, N. Contribution à l'étude des *Listeria* présentes dans les denrées d'origine animale destinées à la consommation humaine. Rec. Med. Vet., 163:283-285, 1987.
18. PINI, P. N. & GILBERT, R. J. The occurrence in the U. K. of *Listeria* species in raw chickens and soft cheeses. Int. J. Food Microbiol., 6:317-326, 1988.
19. ROCOURT, J.; SCHRETTENBRUNNER, A. & SEELIGER, H. P. R. Différenciation biochimique des groupes génomiques de *Listeria monocytogenes* (lato sensu). Ann. Microbiol., 134A:65-71, 1983.
20. SCHMIDT, U.; SEELIGER, H. P. R.; GLENN, E.; LANGER, B. & LEISTNER, L. *Listeria* findings in raw meat products. Fleischwirtschaft, 68:1313-1316, 1988.
21. SEELIGER, H. P. R. & HOHNE, K. In. Methods in Microbiology 13.<sup>a</sup> ed. Academic Press, N. Y., 1979.
22. SHELEF, L. A. Survival of *Listeria monocytogenes* in ground beef or liver during storage at 4°C and 25°C. J. Food Prot., 52:379-383, 1989.
23. SKOVGAARD, N. & MORGEN, C. A. Detection of *Listeria* spp. in faeces from animals, in feeds, and in raw foods of animal origin. Int. J. Food Microbiol., 6:229-242, 1988.
24. TRUSSEL, M. The incidence of *Listeria* in the production of cured and air-dried beef, salami and mettwurst. Schweiz. Arch. Tierheilkd., 131:409-421, 1989.
25. WALKER, S. J.; ARCHER, P. & BANKS, J. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. J. Appl. Bacteriol., 68:157-162, 1990.
26. YOSEF, A. E. & MARTH, E. H. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and storage of Colby cheese. J. Food. Prot., 51:12-15, 1988.