

Listeria sp. EM AFLUENTES E EFLUENTES DE MATADOUROS FRIGORÍFICOS DE BOVINOS EM GOIÁS*

César Augusto Garcia**

RESUMO

Foram analisadas microbiologicamente, com vistas à *Listeria* sp., 140 amostras de afluentes e efluentes de dois matadouros frigoríficos, sendo que um deles possuía sistema de tratamento de efluentes. Foram isoladas *Listeria innocua* 6a; *Listeria innocua* 4ab; *Listeria innocua* não definida sorologicamente; *Listeria innocua* 6b; *Listeria monocytogenes* 4; *Listeria Omonocytogenes* 4b; *Listeria monocytogenes* 1/2b e *Listeria grayi*.

INTRODUÇÃO

As indústrias de produtos de origem animal têm papel relevante na vigilância epidemiológica, fornecendo informações sobre as doenças existentes nas populações animais e, através do trabalho do médico veterinário do Serviço de Inspeção Federal, constituem a barreira mais importante para impedir a transmissão de zoonoses através do consumo de alimentos de origem animal.

* Entregue para publicação em novembro de 1993.

** Docente do Departamento de Doenças e Inspeção de Carnes, Leite e Derivados da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Caixa Postal 131.CEP - 74.001-970, Goiânia, GO.

Por outro lado, estas mesmas indústrias podem servir de foco de disseminação destas zoonoses quando não tratam convenientemente os resíduos de produtos de origem animal que participam na constituição de seus efluentes.

A listerose, uma zoonose relativamente pouco conhecida em nosso meio, já é de notificação obrigatória em vários países, tendo provocado surtos por ingestão de produtos de origem animal contaminados, com vítimas fatais. Vários pesquisadores têm relatado a presença de bactérias do gênero *Listeria* em carnes, leite, vegetais, águas de curso natural e em efluentes de indústrias que manipulam e beneficiam produtos de origem animal.

De acordo com MOUNTNEY & GOULD (1988), existem dois tipos principais de tratamento de efluentes: o tratamento primário, que consiste na retirada mecânica dos sólidos presentes no efluente através de peneiragem, aeração, sedimentação em areia e precipitação de partículas coloidais pela adição de substâncias químicas, dando origem à formação de um lodo, e, o tratamento secundário, que é a decomposição da lama ou lodo resultante do tratamento anterior, através da ação de bactérias, reduzindo-a a um húmus residual. A porção líquida do efluente pode ser descarregada em um ribeirão desde que o mesmo possua suficiente oxigênio dissolvido na água para oxidar os sólidos suspensos no efluente.

Segundo BRAILE & CAVALCANTI (1979), os processos comumente usados no tratamento secundário de despejos de matadouros e frigoríficos são os processos anaeróbicos, as lagoas anaeróbicas, os processos de lodos ativados e suas variantes, os filtros biológicos e os discos biológicos rotativos.

Os processos anaeróbicos de tratamento de efluentes são muito eficientes quando os resíduos são caracterizados por alta carga de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e sólidos em suspensão, consistindo assim em ótima opção para tratamento de águas residuais de matadouros. Estes processos baseiam-se na degradação biológica dos dejetos por bactérias anaeróbicas, produzindo gases e ácidos, o que torna difícil a sobrevivência, neste meio, da maioria dos microrganismos conhecidos. Os tipos de instalações anaeróbicas mais conhecidos são as lagoas anaeróbicas e o processo anaeróbico de contato.

Numa primeira fase do processo anaeróbico de decomposição, a lactose é degradada rapidamente a ácido láctico, o que abaixa o pH do meio e eleva a temperatura. Na segunda fase, dita fermentação metânica, os ácidos produzidos passam a metano e dióxido de carbono, sendo a demanda bioquímica de oxigênio removida em forma de gás.

Podem ser citados ainda como outros tipos de tratamento de despejos as lagoas de estabilização e as lagoas aeradas. As primeiras não têm desempenho satisfatório se não forem precedidas de outro tipo de tratamento, como lagoas anaeróbicas e aeróbicas, para processamento de efluentes de frigoríficos e, mesmo assim, costumam apresentar altas taxas de DBO. Exigem grandes extensões de terrenos para a sua construção devido à necessidade de baixas profundidades, para se evitar problemas com odores e se obter êxito no tratamento.

Segundo BRAILE & CAVALCANTI (1979), as lagoas aeradas possuem equipamentos de aeração que podem se localizar superficialmente, fixos a um eixo, ou flutuantes ou submersos como um sistema de escovas rotativas. Este tipo de lagoa tem profundidades que variam de 2,4 a 4,5 m e retém os despejos por até 10 dias, com aeração prolongada.

Torna-se interessante ressaltar neste trabalho o risco que representa para a população em geral o desaguamento de efluentes de matadouros e frigoríficos nos cursos fluviais urbanos, dos quais se serve uma parcela significativa de habitantes, sem que os mesmos tenham sofrido qualquer tipo de tratamento com vistas à eliminação de agentes patógenos e agentes de zoonoses.

BOHM (1989), abordando o aspecto da necessidade de desinfecção de efluentes de matadouros, frisa que, apesar do efluente sofrer prévio clareamento mecânico antes de ser adicionado ao curso de água natural, isto somente remove as partículas relativamente grandes, enquanto os microrganismos permanecem na fase líquida. O fato de uma grande quantidade de conteúdo estomacal estar presente nos efluentes de frigoríficos e os microrganismos contidos nos despejos não serem removidos por purificação preliminar é de particular importância para a epidemiologia da *Salmonella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Micobacterium* sp., *Bacillus anibracis*, *Brucella* sp. e *Campilobacter* sp. Além destes microrganismos o autor cita ainda *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Staphilococcus* sp., os quais são freqüentemente isolados de efluentes de matadouros e são patogênicos para os animais e, com algumas exceções, para o homem.

HOFER (1975) observou a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em 20 amostras de esgotos urbanos na cidade do Rio de Janeiro. Em duas oportunidades isolou-se e identificou-se *Listeria monocytogenes*, que pela análise sorológica pertencia aos sorotipos 4ab e 4b.

De acordo com KAMPELMACHER & JANSEN (1974), em 165 amostras de efluentes examinados, 100 amostras (61%) foram positivas para

Listeria monocytogenes, sendo 31 do sorotipo 1, 17 do sorotipo 4b e 52 não tipificadas sorologicamente.

DIJKSTRA (1982) estudou a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em águas de superfície de canais e lagos, fossos e efluentes de uma estação de tratamento de esgotos. Das 33 amostras de efluentes de uma estação de tratamento de esgotos, 22 delas (67%) foram positivas para *Listeria monocytogenes*, sendo 12 do tipo 1, 3 do sorotipo 3 e 7 do sorotipo 4a.

GENEVICH *et al.* (1985) isolaram *Listeria monocytogenes* em esgotos, lama de esgotos e rios.

KAMPELMACHER & JANSEN (1980) relatam a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em águas de esgotos e superfícies. De 6 amostras de esgotos analisadas, 5 foram positivas para *Listeria monocytogenes*, sendo 2 do tipo 1, 1 do tipo 3, 1 do tipo 4b e 1 hemolítica não tipável. Das amostras de efluentes, 165 ao todo, 100 amostras se mostraram positivas, sendo 31 do tipo 1, 17 do tipo 4b, 24 hemolíticas não tipáveis e 28 não hemolíticas não tipáveis.

LUPPI *et al.* (1988) isolaram *Listeria monocytogenes* em fezes de humanos assintomáticos, amostras de carnes, alimentos congelados, águas de rios, águas de superfícies, águas de poços no solo e de esgotos urbanos. Os autores encontraram 14 amostras positivas (42,4%) para *Listeria monocytogenes*, dentre 33 amostras analisadas de esgotos. Os autores destacaram que, no ambiente aquático, *Listeria innocua* foi isolada com uma frequência notavelmente maior que *Listeria monocytogenes* (19 cepas *versus* 5 cepas).

AL-GHAZALIX & AL-AZAWI (1986) pesquisaram a presença de *Listeria monocytogenes* em amostras de esgotos e lamas de esgotos na cidade de Bagdá, capital do Iraque. *Listeria monocytogenes* foi isolada de todas as amostras de esgotos dos diferentes estágios de tratamento, sendo reduzida em quantidade após o tratamento final dos esgotos.

KAMPELMACHER & JANSEN (1974) pesquisaram a presença de *Listeria monocytogenes* em efluentes de plantas de tratamento de esgotos urbanos e, dentre outras coisas, concluíram que a *Listeria monocytogenes* pode ser encontrada regularmente nos efluentes urbanos e atribuíram isto à alta porcentagem de fezes positivas para *Listeria* oriundas de homens e animais portadores do microrganismo.

Este trabalho tenta contribuir para o conhecimento da frequência de bactérias deste gênero *Listeria* em efluentes e afluentes de matadouros frigoríficos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas 140 amostras de águas de efluentes e afluentes de dois matadouros frigoríficos, um com sistema de tratamento de efluentes composto por tratamento prévio (gradação, desaeração), tratamento primário (decantação e separação de gorduras) e tratamento secundário (lagoas anaeróbias e facultativas), e outro sem qualquer tipo de tratamento para seus efluentes. Uma das indústrias (1) capta água de um curso de água natural, enquanto a outra (2) capta água a partir de três poços artesianos.

As amostras foram colhidas em frascos de 1000 ml, previamente esterilizados e lacrados, e transportados até o laboratório em caixas isotérmicas contendo sacos plásticos com gelo em seu interior.

Foram colhidas 70 amostras em cada indústria, sendo duas amostras por dia em cada uma. Uma procedente do local de captação de água (afluente) e outra do local em que eram vertidas as águas servidas (efluentes).

Para o isolamento de *Listeria* sp. utilizou-se a técnica preconizada pelo Serviço de Inspeção e Segurança de Alimentos (FSIS), do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), desenvolvida por McCLAIN & LEE, (1986) substituindo-se o meio sólido LPM pelo meio LSAB (*Listeria* Selective Agar Base). Antes de ser semeadas, as amostras eram necessariamente filtradas em filtro de papel quantitativo e algodão hidrófilo esterilizados e, a seguir, submetidas a outra filtragem em filtro marca Millipore, com membrana de éster celulose de 47 mm de diâmetro e 0,45 micrômetros de poro. A membrana então era retirada e picotada em caldo de enriquecimento. Após o plaqueamento, as colônias suspeitas eram pescadas e submetidas à coloração de Gram em lâmina, prova de catalase, meio TSI, meio para motilidade e provas bioquímicas de Uréia, VM-VP, Manitol, Maltose, Rhamnose, Esculina, Glicose, Xilose e CAMP-TEST, para evidenciação de hemólise em sangue de carneiro com cepas de *Rodococcus egui* e *Staphylococcus aureus*, provas estas todas descritas por McFADDIN (1976), LOVET *et al.* (1987), McCLAIN & LEE (1988). A caracterização sorológica das amostras suspeitas de *Listeria* foi feita pelo Dr. Ernesto Hofer, do Departamento de Bacteriologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz, na cidade do Rio de Janeiro, utilizando-se a técnica de soro aglutinação em lâminas através de antissoros policlonais absorvidos (antissoros de fatores somáticos "O" e flagelares "H"), para a caracterização antigênica das espécies de *Listeria* em sorotipo/sorovar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Espécies e quantidades de bactérias do gênero *Listeria* isoladas e caracterizadas em afluentes e efluentes encontram-se listadas na Tabela I.

Observa-se que das 98 cepas isoladas a partir de amostras da indústria 1, 54 (55,10%) originaram-se das amostras de afluentes e 44 originaram-se de amostras de efluentes; verifica-se, portanto, um maior número de isolamentos a partir de efluentes. Esta constatação vem encontrar explicação no sistema de tratamento de efluentes e na cloração da água dos afluentes, realizada pela indústria em questão. O tratamento dos efluentes por gradeação, decantação, separação de gorduras e passagem por lagoas anaeróbicas e de estabilização, se não exterminou as bactérias do gênero *Listeria*, contribuiu para a sua redução após a adição preliminar do cloro aos afluentes.

A presença de bactérias do gênero *Listeria* nas amostras de efluentes da indústria 1 não surpreendeu, já que a fonte de captação de água era um córrego visivelmente poluído por matérias orgânicas. A indústria 1 já capta água para seu consumo contaminada por *Listeria* sp.

Das amostras de afluentes e efluentes obtidas na indústria 2, observou-se que houve isolamento de 67 cepas (40,67%) a partir de afluentes e de 98 (59,39%) a partir de efluentes da referida indústria. A constatação de que houve maior número de isolamentos nas amostras de efluentes, denotando um aumento da quantidade de isolamentos após a utilização da água pelo matadouro frigorífico, vem confirmar que a água utilizada nas operações de abate e processamento de animais de açougue torna-se contaminada e agirá como veículo de transmissão do agente, a menos que sofra tratamento adequado. Como é conhecido, a indústria 2 não realiza tratamento de seus efluentes e, conseqüentemente, apresenta maior possibilidade de isolamento de *Listeria* sp.

Quanto ao isolamento de *Listeria* sp. em amostras de afluentes da indústria 2, ele pode ser justificado por estar a captação de água da indústria resumida a três poços artesianos. A contaminação de águas destes poços por lençóis freáticos, formados por água contaminada, oriunda de enxurradas e outras fontes que se infiltraram no solo, poderia explicar em parte a presença do microrganismo nos afluentes desta indústria.

Quando se analisa as espécies de bactérias do gênero *Listeria*, isoladas de amostras de afluentes e efluentes de ambas as indústrias, podemos observar

que certas espécies foram isoladas em amostras oriundas das duas indústrias, como é o caso da *Listeria innocua* sorotipo 6a e *Listeria monocytogenes* sorotipo 1/2b. Certas espécies foram isoladas somente em amostras oriundas de uma das indústrias estudadas, como é o caso da *Listeria innocua* sorotipo 4ab e *Listeria grayi* na indústria 1 e *Listeria monocytogenes* sorotipo 4b e 4e e *Listeria innocua* sorotipo 6b na indústria 2. Observamos ainda que, na indústria 1, algumas amostras de afluentes e efluentes exibiram cepas *Listeria* que não puderam ser tipificadas sorologicamente. Os sorotipos isolados nos afluentes de uma indústria também foram isolados nos efluentes desta mesma indústria, exceção existente no caso da *Listeria grayi*, que só foi isolada no efluente da indústria 1, e da *Listeria monocytogenes* sorotipo 1/2b, que só foi isolada nos efluentes da indústria 2, não aparecendo dentre as bactérias isoladas nos afluentes desta indústria.

Atribuem-se estas observações às características do sistema de amostragem que, quer pela quantidade de amostras ou pela frequência das coletas ou ainda pelo tipo de amostra analisada (água), pode não ter permitido a repetição de todas as espécies isoladas nas amostras de afluentes e efluentes das duas indústrias.

As espécies de bactérias do gênero *Listeria* isoladas no presente trabalho foram também isoladas por HOFER (1975), KAMPELMACHER & JANSEN (1974) e DJKISTRA (1982), com exceção de *Listeria grayi*, que não foi isolada por nenhum destes autores.

Dentre as espécies isoladas, a *Listeria innocua* sorotipo 6a foi isolada em maior número, em amostras de afluentes e efluentes, que as demais espécies. Esta observação confirma em parte os achados de LUPPI *et al.* (1988), quando os autores referem-se à predominância desta espécie em águas de superfície (afluentes), mas contradiz os mesmos autores que dizem haver predominância de *Listeria monocytogenes* nas amostras de esgotos por eles analisadas, já que o mesmo não ocorreu neste trabalho. A divergência de resultados poderia ser explicada mais uma vez por variáveis tais como tipo de amostra, tamanho da amostragem e local de coleta, além da técnica e meios de cultura analisados no isolamento pelo autor que, no trabalho citado, usou a técnica de enriquecimento a frio.

Com relação à espécie *Listeria monocytogenes*, as cepas encontradas em efluentes foram de, no máximo, 6,12%, enquanto outros autores encontraram percentuais maiores; HOFER (1975) encontrou 10%, KAMPELMACHER & JANSEN (1974) encontraram 60,6%, DJKISTRA (1982) isolou em 67% de

suas amostras; LUPPI *et al.* (1988) 42,4% e AL-GHAZALI & AL-AZAWI (1986) encontraram 91,8%.

A discrepância entre os resultados encontrados neste trabalho e os dos autores citados pode ser explicada pelos tipos de efluentes analisados, pelas variações nos tamanhos das amostras e ainda pelas técnicas e meios de cultivo utilizados no isolamento em ambos os trabalhos.

Tabela I - Espécies e quantidades de bactérias do gênero *Listeria*, isoladas e caracterizadas sorologicamente a partir de amostras de afluentes de dois matadouros frigoríficos localizados na cidade de Goiânia, Goiás, no período de dezembro de 1990 a junho de 1991

ESPÉCIES	Indústria 1		Indústria 2	
	Afluentes	Efluentes	Afluentes	Efluentes
<i>L. innocua</i> sorotipo 6a	45	31	61	82
<i>L. innocua</i> sorotipo 6b	-	-	4	4
<i>L. innocua</i> sorotipo 4ab	1	9	-	-
<i>L. innocua</i> não tipável	7	2	-	-
<i>L. monocytogenes</i> sorotipo 1/2b	1	1	-	1
<i>L. monocytogenes</i> sorotipo 4e	-	-	1	6
<i>L. monocytogenes</i> sorotipo 4b	-	-	1	5
<i>L. grayi</i>	-	1	-	-
CEPAS ISOLADAS	54	44	67	98
AMOSTRAS ANALISADAS	35	35	35	35

CONCLUSÕES

A *Listeria innocua* sorotipo 6a foi a bactéria do gênero *Listeria* mais isolada, seguida pela *Listeria innocua* sorotipo 4ab, *Listeria monocytogenes* sorotipo 4b, *Listeria monocytogenes* sorotipo 1/2b e *Listeria grayi*.

ABSTRACT

Listeria sp. IN BOVINE SLAUGHTERHOUSES WASTEWATERS OF GOIÁS.

One hundred and forty samples of wastewater from two bovine slaughterhouses were microbiologically analysed. Only one of the slaughterhouses had treatment system LSAB and LPM medium *Listeria innocua* 4ab, *Listeria innocua* not defined serologically, *Listeria innocua* 6b, *Listeria monocytogenes* 4e, *Listeria monocytogenes* 4b, *Listeria monocytogenes* 1/2b and *Listeria grayi* were isolated.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-GHAZALI, M.R.; AL-AZAWI, S.K. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in a sewage treatment plant in Iraq. *Journal of applied Bacteriology*, v. 60, 1985, p. 251-4.
- BOHM, R. Possible ways of disinfecting slaughterhouse effluent. *Eleischwirtschaft*, v. 69, 1989, p. 1700-1702.
- BRAILE, P.M.; CAVALCANTI, J.E.W.A. *Manual de tratamento de águas residuárias alimentares*. São Paulo, CETESB, 1979, p. 139-74.
- DIJKSTRA, R.G. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in surface water of acais and jakes, in ditches of one big polger and in the effluents and canals of a sewage treatment plant. *Zol. Bakt. Hug*, 1 Abt. Orig. B. v. 176, 1982, p. 202-5.
- GENEVICH, H.H.; MULLER, H.E.; SCHRETTENBRUNNER, A.; SEELIGER, H.P.R. The occurrence of different *Listeria* species in municipal waste water. *Zol. Bakt. Hug*, 1 Abt. Orig. B. v. 181, 1985, p. 563-5.
- HOFER, E. Isolamento e caracterização de *Listeria monocytogenes* em águas de esgoto. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 73, 1975, p. 31-8.

- KAMPELMACHER, E.H.; JANSEN, L.M.V.N. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in effluents. In: International Symposium Problems Of Listeriosis, 6. Nottingham. *Proceedings*. 1974, p. 66-70.
- KAMPELMACHER, E.W.; JANSEN, L.M.V.N. Listeriosis in humans and animals in the Netherlands (1958-1977). *Zol. Bakt. Hug*, 1. Abt. Origin. A. v. 246, 1980, p. 221-27.
- LUPPI, A.; BUCCI, G.; MAINI, P.; ROCOURT, J. Ecological survey of *Listeria* in the Ferrara area (Northern Italy). *Zol. Bakt. Hug*. A. v. 269, 1988, p. 266-75.
- MOUNTNEY, G.L.; GOULD, W.A. Waste treatment. *Practical Food Microbiology and Technology*, 3.ed. New York, Van Nostrand Reinhold Company. 1988, p. 286-295.