

## Área: Ciência de Alimentos

# PRESENÇA DE *Salmonella* spp. E *Listeria monocytogenes* EM DERIVADOS CÁRNEOS COMERCIALIZADOS NO SUL DO BRASIL

Joline Dalla Vecchia\*, Mariana Almeida Iglesias, Simone Rauber Würfel, Cristiane Vaniel, Wladimir Padilha da Silva

*Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Laboratório de Microbiologia de Alimentos,*

*Universidade Federal de Pelotas, RS*

*\*E-mail: kihdallavecchia@gmail.com*

**RESUMO** – Os produtos de origem animal representam um importante papel no que diz respeito às doenças transmitidas por alimentos. Dentre os derivados cárneos destaca-se a linguiça como um dos principais embutidos suscetíveis à contaminação, tanto por micro-organismos patogênicos como deteriorantes devido a grande manipulação do produto durante o preparo, a exposição da carne a diversas fontes de contaminação e ainda a procedência da matéria-prima. Tendo em vista estes dados, o presente trabalho objetivou avaliar amostras de linguiça do tipo frescal e defumada comercializadas na região sul do Rio Grande do Sul, quanto à presença de *Salmonella* spp. e *L.monocytogenes*. O isolamento e identificação foi realizado de acordo com *American Public Health Association* e *International Organization for Standardization*, após foi realizada a confirmação das espécies através da *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Das sete amostras de linguiça defumada analisadas, duas delas apresentaram contaminação, sendo uma por *Salmonella* spp. e a outra por *L.monocytogenes*. Já quando se avaliou as amostras de linguiça tipo frescal foi possível detectar a presença de *Salmonella* spp. em duas das seis amostras analisadas, demonstrando o risco à saúde pública e a importância do controle ao longo do processo de fabricação desse tipo de alimento, bem como a necessidade de intensificar a vigilância sanitária.

**Palavras-chave:** Linguiça, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.,

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos de origem animal possuem importante papel no que diz respeito às doenças transmitidas por alimentos, e apesar dos avanços tecnológicos, a presença de micro-organismos patogênicos ainda é bastante elevada nestes produtos, o que representa um risco potencial à saúde do consumidor (CARVALHO & CORTEZ, 2005). Aliado a isto, a crescente demanda por derivados cárneos tem contribuído para que o risco de envolvimento destes produtos em surtos de doenças de origem alimentar aumente significativamente (CASTAGNA *et al.*, 2004).

A linguiça representa um dos principais embutidos suscetíveis à contaminação, tanto por micro-organismos patogênicos como deteriorantes, podendo ocorrer durante o preparo, manufatura e estoque do produto (GIOVANNINI; PRENCIPE; CONTE, 2004), tornando-se um risco potencial à saúde pública. Dentre os micro-organismos patogênicos que podem estar presentes neste tipo de alimento, destacam-se *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

*Salmonella* spp. vem sendo identificada como o principal micro-organismo responsável por doenças transmitidas por alimentos no Brasil e em diversos países, sendo os alimentos de origem animal o principal veículo de transmissão deste patógeno (COSTALUNGA & TONDO, 2002; GEIMBA *et al.*, 2004).

Em contraste, a listeriose é menos frequente, porém apresenta elevada taxa de mortalidade, podendo chegar a 50% dos casos (CDC, 2005). *L. monocytogenes*, por sua natureza ubíqua, tem sido encontrada amplamente distribuída na natureza, sendo isolada de diversas fontes ambientais e podendo contaminar uma grande variedade de alimentos, principalmente produtos lácteos e carnes (VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001). Como o alimento é a principal fonte de contaminação por *L. monocytogenes*, esta bactéria tornou-se uma importante preocupação para a indústria de alimentos a partir do momento em que os surtos e casos de listeriose foram, em sua grande maioria, associados ao consumo de produtos processados industrialmente (ILSI, 2005).

Pelo exposto, o presente trabalho objetivou avaliar amostras de linguiça do tipo frescal e defumada comercializadas na região sul do Rio Grande do Sul, quanto à presença de *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas treze amostras de linguiça, sendo sete linguiças defumadas e seis linguiças do tipo frescal, comercializadas na região sul do Rio Grande do Sul. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e, sob refrigeração, conduzidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos/DCTA/FAEM/UFPel, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

### 2.1 Isolamento e identificação de *Salmonella* spp.

O isolamento e a identificação presuntiva de *Salmonella* spp. foram realizados segundo metodologia preconizada pela *American Public Health Association* - APHA (2001), onde 25g de cada amostra foi submetida a pré-enriquecimento em Água Peptonada Tamponada - APT (Acumedia®) com incubação por 24h a 37°C, seguida de enriquecimento seletivo em caldo Tetrionato - TT (Acumedia®) e em caldo Rappaport-Vassiliadis - RV (Acumedia®) por 24h a 35°C e 42°C, respectivamente. Após, foi realizada a semeadura diferencial nos ágares Hektoen Enterico - HE (Acumedia®) e Xylose Lisina Desoxicolato - XLD (Acumedia®), sendo incubados por 24h a 35°C. Após esse período, as colônias características de *Salmonella* spp. foram submetidas a confirmação bioquímica presuntiva, em ágar Tríplice Açúcar Ferro - TSI (Acumedia®), ágar Lisina Ferro - LIA (MicroMed®) e ágar Uréia - UA (Vetec®). Os cultivos celulares com características bioquímicas típicas de

*Salmonella* spp. foram, então submetidos a testes sorológicos, utilizando-se os soros polivalente somático e flagelar (Probac®).

## 2.2 Isolamento e identificação de *Listeria monocytogenes*

O isolamento e a identificação de *L. monocytogenes* foram realizados conforme a metodologia preconizada pelo *International Organization for Standardization* (ISO 11.290-1, 2004), com adaptações, onde 25g de amostra foi submetida a pré-enriquecimento em caldo Half Fraser (Oxoid®) com incubação a 30°C por 24 horas, seguida da inoculação de uma alíquota em caldo Fraser (Oxoid®) e incubação a 35°C por 48 horas. A semeadura foi realizada nos ágar Oxford (Oxoid®) e Cromogênio (Oxoid®), sendo incubados a 35°C por 48 horas. Os isolados obtidos foram submetidos a testes fenotípicos de verificação da produção de catalase, motilidade característica, fermentação de carboidratos (dextrose, xilose, ramnose e manitol) e produção de  $\beta$ -hemólise.

## 2.3 Confirmação dos isolados

A extração do DNA dos isolados foi realizada utilizando pérolas de vidro (SAMBROOK & RUSSEL, 2001), após incubação em Tryptic Soy Broth – TSB (Acumedia®) a 35°C por 24 horas. Em seguida, o DNA bacteriano extraído foi quantificado através do equipamento NanoVue™ Plus e a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) foi realizada utilizando o termociclador MJ Research PTC 100.

Para a identificação de *Salmonella* spp., foram utilizadas sequência de oligonucleotídeos derivadas do gene *hila*, com produto de amplificação de 413 pb (CRACIUNAS et al., 2012). Os isolados de *L. monocytogenes* foram confirmados utilizando-se *primers* específicos para detecção do gene alvo *inlA*, que geram um *amplicon* de 800 pb (LIU et al., 2007).

Os produtos da PCR foram aplicados em gel de agarose a 1,5% e corados com GelRed™, sendo visualizados em luz ultravioleta.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível detectar a presença de *Salmonella* spp. em 23,1% (n=3) das amostras, sendo uma em linguiça defumada e duas em linguiça do tipo frescal. *L.monocytogenes* foi isolada em 7,7% (n=1) do total de amostras, sendo proveniente de linguiça defumada.

Resultados semelhantes foram encontrados por Karakolev (2009), onde 8,6% das amostras de linguiça defumada analisadas apresentaram contaminação por *L.monocytogenes*. Em relação à presença de *Salmonella* spp., Carvalho e Cortez (2005) encontraram o micro-organismo em 16% das amostras de linguiça analisadas, o que corrobora os resultados encontrados em nosso estudo.

A presença de *Salmonella* spp. e *L.monocytoeogens* nas amostras de produtos cárneos analisadas pode estar relacionada com a grande manipulação do produto durante o preparo, sendo exposto a diversas fontes de contaminação. Além disso, a procedência da matéria-prima pode ter contribuído para a contaminação do produto final.

## 4 CONCLUSÃO

A contaminação dos produtos cárneos analisados por *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes* representa um grande risco aos consumidores e alerta para a importância do controle ao longo de todo processo de fabricação destes alimentos, bem como para a necessidade de intensificar a vigilância sanitária nos estabelecimentos.

## 5 AGRADECIMENTOS

À CAPES e FAPERGS pela concessão de bolsas de estudo.

## 6 REFERÊNCIAS

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4rd ed. Washington, DC, 2001.
- CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. *Salmonella* spp. in carcasses, mechanically deboned meat, sausages and chicken meat. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465-1468, 2005.
- CASTAGNA, S. M. F.; SCHWARZ, P.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 141-147, 2004.
- CENTER FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preliminary Foodnet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through-food – 10 States, United States, 2005.
- COSTALUNGA, S.; TONDO, E. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, 1997–1999 **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p. 342–346, 2002.
- CRACIUNAS, C.; KEUL, A. L.; FLONTA, M.; CRISTEA, M. DNA-based diagnostic tests for *Salmonella* strains targeting *hlyA*, *agfA*, *spvC* and *sef* genes. **Journal of Environmental Management**, v. 29, p. S15-S18, 2012.

GEIMBA, M.P.; TONDO, E.C.; OLIVEIRA, F.A.; CANAL,C.W.; BRANDELLI, A. Serological characterization and prevalence of *spvR* genes in *Salmonella* isolated from foods involved in outbreaks in Brazil. **Journal of Food Protection**, v.67 , p. 1229–1233, 2004.

GIOVANNINI, A.; PRENCIPE, V.; CONTE, A. Quantative risk assessment of *Salmonella* spp. infection for the consumer of pork products in an italian region. **Food Control**, v.15, p.139-144, 2004.

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.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 11.290-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Listeria monocytogenes*, 1th ed, 2004.

KARAKOLEV, R. Incidence of *Listeria monocytogenes* in beef, pork, raw-dried and raw-smoked sausages in Bulgaria. **Food Control**, v.10, p.953-955, 2009.

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.

SAMBROOK, J., RUSSEL. D. W. **Molecular cloning**: a Laboratory manual, 3. ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York : CSHL, 2001.

VÁZQUEZ-BOLAND, J. A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMINGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W.; GONZÁLEZ-ZORN, B.; WEHLAND, J.; KREFT, J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 3, p. 584– 640. 2001.